DOI 10.24411/issn.1609-2163

ISSN 1609-2163

ВЕСТНИК
новых медицинских технологий

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES

№ 3

Любовь к врачебному искусству — это и есть любовь к человечеству.

Гиппократ

Тематический выпуск:

“Актуальные вопросы теории и практики медицины”

ISSN 1609-2163

9 771609 216000 >

Сентябрь, 2018

September, 2018

Юбиляру 65

КУПЕЕВ ВЛАДИМИР ГЕОРГИЕВИЧ. Родился в 1953 г. В 1970 году окончил среднюю школу в п. Мизур, Северной Осетии окончил в Северо-Осетинкий Государственный медицинский институт в 1976 году. С 1976 по 1977 гг. проходил интернатуру по специальности «терапия» в Тульской областной больнице № 1. С 1978 по 1980 работал в должности главного врача санатория-профилактория г. Северо-Задонск, Тульской области. 1980-1981 гг. Служба в органах МВД СОАССР, врач в МСЧ МВД ОИТУ. 1981-1983 – зам. Главного врача по лечебной работе поликлиники № 5 г. Владикавказа, Республики Северная Осетия. 1983-1985 – клиническая ординатура по специальности «терапия» на базе Ленинградского института усовершенствования врачей. 1986-1997 гг. – Главный врач гизельской врачебной амбулатории, Пригородной ЦРБ МЗ Северо-Осетинской АССР. В 1995 г. организовал Центр Восстановительной Медицины, на базе которого разработаны медицинские технологии и методики эффективного лечения ряда хронических заболеваний, а также методики оздоровления детей и подростков, студентов и спортсменов. С 1997 по 2007 врач кабинета магнито-лазерной терапии, поликлиники № 1, г. Владикавказа. С 2001 г. – Научный сотрудник НИИ Медико-биологических проблем ВНЦ РАН и правительства РСО-А. В 2000 г. защитил кандидатскую диссертацию по теме «Фитолазерофорез в лечении заболеваний внутренних органов». В 2003 г. – защита докторской диссертации.

Врач с 32 летним стажем практической деятельности. Автор более 110 печатных работ, 9 монографий и 1 патента. Автор-разработчик ряда оригинальных высокоэффективных медицинских технологий и методик лечения ряда хронических заболеваний, которые считают неподдающимися или трудно поддающимися лечению, требующих длительной медика-ментозной терапии или обширных хирургических вмешательств.

Купеевым изданы популярные книги о здоровье человека: «Лечиться всю жизнь или жить здоровым. Выбор за вами!»; «СДВГ, Эпилепсия, ДЦП. Избавление от «неизлечимого»; «Вся правда о молодости, красоте и женских болезнях».

Действительный член Российской академии естествознания, Международной академии фундаментальных наук, Член европейской лазерной ассоциации, отделения фундаментальных медико-биологических исследований Европейской академии естественных наук.

Результаты сделанных разработок представлены на 25 выставках, в том числе – на 6 международных (Мальта, Германия, Индия, Аргентина). Выступал на международных конференциях и конгрессах в Испании, Италии, на Кипре и в Израиле.

Свои инновационные подходы к излечению сложных и хронических заболеваний В.Г. Купеевым внедрены в медицинские центры МЧС, МВД, НИИ ВНЦ РАН и др.

Редакция журнала «Вестник новых медицинских технологий» поздравляет юбиляра и желает ему многих лет плодотворной научной и практической деятельности, здоровья и благополучия.

Юбиляру 75

БРИН ВАДИМ БОРИСОВИЧ. Действительный член (академик) Европейской академии естественных наук, Российской академии естественных наук (РАЕН) и др. Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации, заслуженный деятель науки Северной Осетии, доктор медицинских наук, профессор. Род. 14.08.1943 г. в г. Орджоникидзе Северо-Осетинской АССР. Окончил Северо-Осетинский государственный медицинский институт в 1965 г. с отличием. В том же году поступил в аспирантуру при кафедре патологической физиологии Ростовского государственного медицинского института, после окончания которой и защиты кандидатской диссертации с 1968 г. стал работать там же ассистентом кафедры патологической физиологии. В 1980 г. защитил докторскую диссертацию, в 1984 г. присвоено звание профессора по кафедре «Нормальная физиология». С 1983 г. — заведующий кафедрой нормальной физиологии Северо-Осетинской государственной медицинской академии, с 1996 г. — зав. отделом физиологии и патологии висцеральных систем Института биомедицинских исследований (ИБМИ) Владикавказского научного центра РАН и РСО-А. С 1986 по 2013 г. был проректором по научной работе Северо-Осетинской государственной медицинской академии. В 1993 г. ему присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки и техники Северо-Осетинской ССР», в 2005 г. звание «Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации». В 1995 г. избран действительным членом Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности (МАНЭБ), и членом-корр. Академии наук высшей школы, в 2004 г. — действительным членом РАЕН. Внес значительный вклад в развитие фундаментальной медицины: им решен ряд проблем, связанных с механизмами экспериментального аллергического энцефаломиелита, возрастными особенностями механизмов регуляции кровообращения и патогенеза артериальной гипертензии, гуморальной регуляцией функции почек и системной гемодинамики, регуляцией реактивности сердечно-сосудистой системы и почек. Ряд его работ посвящен изучению экологических аспектов состояния здоровья различных групп населения республики Северная Осетия-Алания. Им впервые расшифрованы механизмы действия соединений кобальта, свинца, кадмия, ртути, никеля, вольфрама и молибдена на сердечно-сосудистую систему и функции почек, в связи с состоянием гомеостазиса кальция в организме, экспериментально обосновал технологии профилактики и лечения интоксикаций солями тяжелых металлов; создал ряд моделей экспериментального амилоидоза почек и сердца, разоработал способы экспериментальной терапии и профилактики этих патологических процессов. Автор и соавтор более 520 научных работ, в том числе 7 монографий, руководства по физиологии человека в 3-х томах, 12 учебников, 21 учебное пособие, 52 патента на изобретения и др. Составил мультимедийный атлас по физиологии.

В 2005 г. ему присвоено звание «Заслуженный работник высшей школы Российской Федерации» Награжден орденом Дружбы (2011), медалью «Во СлавуОсетии» (2013), медалью им. М.В. Ломоносова МАНЭБ (1998), серебряной медалью им. И.П. Павлова «За развитие медицины и здравоохранения» (1999), медалью им. Р. Вирхова ЕАЕН (2012), медалью «Заслуженный изобретатель Европы» ЕАЕН (2013). Его имя внесено в 25 том Международного биографического словаря и 12-го издания Международного словаря «Кто есть кто среди интеллектуалов», издаваемых в Кембридже. В течение 15 лет был председателем диссертационного совета. Под его руководством выполнено и защищено 36 кандидатских и 8 докторских диссертаций. Ученым советом СОГМА он был признан руководителем научной школы. Является членом президиума Владикавказского научного центра РАН и Правительства РСО-А, членом Центрального совета и председателем Северо-Осетинского отделения Российского физиологического общества им. И.П. Павлова, членом редакционных советов журналов «Вестник новых медицинских технологий», «Медицинский вестник Северного Кавказа», «Владикавказский медико-биологический вестник». Член Отделения фундаментальных медико-биологических исследований Европейской академии естественных наук.

Редакция журнала «Вестник новых медицинских технологий» поздравляет юбиляра и желает ему многих лет плодотворной научной и практической деятельности, здоровья и благополучия.

DOI 10.24411/1609-2163

ВЕСТНИК
НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Индекс 72895

© 2018

Том 25, № 3, 2018

Периодический теоретический и научно-практический журнал

Постановлением № 227 Правительства РФ от 20 апреля 2006 г. журнал включен в число изданий, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертационных исследований (докторских и кандидатских) по медицинским и биологическим наукам. Журнал включен в новую редакцию Перечня ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК РФ 01.12.2015 г. Журнал представлен в РИНЦ (E-Library, Россия): двухлетний импакт-фактор 2016 – 1,288; Двухлетний импакт-фактор РИНЦ с учетом цитирования из всех источников – 1,975, Google Scholar, Ulrich's Periodical Directory (США) и Научной электронной библиотеке «КиберЛенинка».

Журнал основан в июле 1994 года в г. Туле. Выходит 4 раза в год **(Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС77-50121 от 04.06.2012 г.)**

УЧРЕДИТЕЛИ ЖУРНАЛА:
Тульский государственный университет,
Тульское региональное отделение
Академии медико-технических наук.

НАУЧНАЯ ПОДДЕРЖКА:
Российская академия медицинских наук, Европейская академия естественных наук, Российская академия естественных наук, Международная академия наук, Международная академия информатизации, Петровская академия наук и искусств, Международная академия наук экологии и безопасности жизнедеятельности, Международная академия творчества, Академия медико-технических наук, Академия инженерных наук, Российская академия естествознания, Академия фундаментальных наук.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА:
Сургутский государственный университет

Главный редактор:
Хадарцев Александр Агубечирович – д.м.н., проф. (Тула)
Зам. главного редактора:
Еськов Валерий Матвеевич – д.б.н., д.ф-м.н., проф. (Сургут);
Яшин Алексей Афанасьевич **–** д.б.н., д.т.н., проф. (Тула).

Общественный совет:
Косенок Сергей Михайлович – д.пед.н., проф. (Сургут);
Леонов Борис Иванович – д.т.н., проф. (Москва);
Таймазов Владимир Александрович – д.пед.н., проф. (Санкт-Петербург); Фролов Вадим Николаевич – д.т.н., проф. (Воронеж); Хрупачев Александр Геннадьевич – д.т.н. (Тула); Цкипури Юрий Иванович – д.м.н, проф. (Тула);
Bachmeier Miroslav – медицинский советник Praga2Agenci (Чехия); *Fitzgerald Edward* – д.м.н., проф. (США);
Khuchinsky Tadeusz – зав. кафедрой профессор Варшавского университета (Польша); *Kofler Walter Wolgan* – д.м.н., проф. (Австрия); *Tyminsky Vladimir* – проф., Präsident Europäische Akademie der Naturwissenschaften e.v. (Германия).

Зав. редакцией: Е.В Дронова
Редактор: Е.В. Дронова
Перевод: И.С. Данилова
Компьютерная верстка и изготовление оригинал-макета обложки Е.В. Дронова

АДРЕС РЕДАКЦИИ: 300028, Тула, ул. Смидович, д. 12;
ТулГУ, мединститут, тел.: (4872) 73-44-73,
e-mail: medins@tsu.tula.ru or vnmt@yandex.ru,
website: http://vnmt.ru (англ.), http://medtsu.tula.ru (рус.).

Отпечатано в издательстве ТулГУ
300600, г. Тула, пр. Ленина, 95
Подписано в печать
Формат бумаги 70/100 1/16
Уч. изд. л. 40,5 Усл. печ. л. 23,6
Тираж 1000 Заказ

Редакционная коллегия:
Агасаров Лев Георгиевич – д.м.н., проф. (Москва);
Атлас Елена Ефимовна – д.м.н., доцент (Тула);
Бадтиева Виктория Асланбековна – член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Беличенко Олег Игоревич – д.м.н., проф. (Москва);
Беляева Елена Александровна – д.м.н. (Тула);
Борисова Ольга Николаевна – д.м.н., доцент (Тула);
Борсуков Алексей Васильевич – д.м.н., проф. (Смоленск);
Брин Вадим Борисович – д.м.н., проф. (Владикавказ);
Булгаков Сергей Александрович – д.м.н., профессор (Москва);
Веневцева Юлия Львовна – д.м.н. (Тула);
Волков Валерий Георгиевич – д.м.н., проф. (Тула);
Воронцова Зоя Афанасьевна – д.б.н., проф. (Воронеж);
Гонтарев Сергей Николаевич – д.м.н., проф. (Белгород);
Грязев Михаил Васильевич – д.т.н., проф. (Тула);
Гуляев Юрий Васильевич – акад. РАН, д.физ.-мат.н., проф. (Москва);
Гусейнов Ариф Зияд оглы – д.м.н., проф. (Санкт-Петербург);
Есауленко Игорь Эдуардович – д.м.н., проф. (Воронеж);
Зилов Вадим Георгиевич – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Иванов Денис Викторович – д.м.н. (Москва);
Киреев Семен Семенович – д.м.н., проф. (Тула);
Китиашвили Ираклий Зурабович – д.м.н., проф. (Астрахань);
Козырев Олег Анатольевич – д.м.н., проф. (Смоленск);
Колесников Сергей Иванович – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Купеев Владимир Георгиевич – д.м.н. (Москва);
Ластовецкий Альберт Генрихович – д.м.н., проф. (Москва);
Лищук Александр Николаевич – д.м.н., проф. (Москва);
Малыгин Владимир Леонидович – д.м.н., проф. (Москва);
Марийко Владимир Алексеевич – д.м.н., доцент (Тула);
Минаков Евгений Иванович – д.т.н., доцент (Тула);
Наумова Эльвина Муратовна – д.б.н., (Тула);
Несмеянов Анатолий Александрович – д.м.н., проф. (Санкт-Петербург);
Никитин Михаил Владимирович – д.м.н. (Геленджик);
Никитюк Дмитрий Борисович – член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Павлов Олег Георгиевич – д.м.н., проф. (Тула);
Пальцев Михаил Александрович – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Сапожников Владимир Григорьевич – д.м.н., проф. (Тула);
Сороцкая Валентина Николаевна – д.м.н. (Тула);
Субботина Татьяна Игоревна – д.м.н., доцент (Тула);
Теодорович Олег Валентинович – д.м.н., проф. (Москва);
Тутельян Виктор Александрович – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Фудин Николай Андреевич – член-корр. РАН, д.б.н., проф. (Москва);
Хадарцева Кызылгуль Абдурахмановна – д.м.н., доцент (Тула);
Хетагурова Алла Константиновна – д.м.н., проф. (Москва);
Хритинин Дмитрий Федорович – член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Хромушин Виктор Александрович – д.б.н., к.т.н. (Тула);
Цыганков Борис Дмитриевич – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Честнова Татьяна Викторовна – д.б.н., доцент (Тула);
Чучалин Александр Григорьевич – акад. РАН, д.м.н., проф. (Москва);
Юргель Николай Викторович – д.м.н., проф. (Москва);
Bredikis Jurgis Juozo – д.м.н., эмерит-проф. (Литва).

Редакционный совет:
Айламазян Эдуард Карпович – акад. РАН, д.м.н., проф. (Санкт-Петербург);
Жеребцова Валентина Александровна – д.б.н. (Тула);
Зарубина Татьяна Васильевна – д.м.н., проф. (Москва);
Зурнаджьянц Виктор Ардоваздович – д.м.н., проф. (Астрахань);
Мидленко Владимир Ильич – д.м.н., проф. (Ульяновск);
Полунина Ольга Сергеевна – д.м.н., проф. (Астрахань);
Смоленский Андрей Вадимович – д.м.н., проф. (Москва);
Филатова Ольга Евгеньевна – д.б.н., проф. (Сургут);
Чамсутдинов Наби Умматович – д.м.н., проф. (Махачкала);
Чемерис Николай Константинович – д.б.н. (Москва);
Taborsky Milosh – PhD (Чехия);
Weidong Pan – PhD (UTS), MeD (NAAU, China), BSc (WU, China) (Китай).

DOI 10.24411/1609-2163

JOURNAL

Index 72895

OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES

© 2018

Volume 25, № 3, 2018

Periodic Theoretical and Scientific – Practical Journal

The Journal has Registration Certificate of Russian Mass Media Agency – PI FS77-50121 from 04.06.2012 and prooved by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation from 01.12.2015. The Journal of New Medical Technologies is presented in the Russian Science Citation Index: the two-year impact factor of 2016 is 1,288; The two-year impact factor, citing from all sources, is 1.975, Google Scholar, Ulrich's Periodical Directory (USA) and Scientific electronic library «CyberLeninka».

The journal was founded in July, 1994 in Tula. The journal is issued 4 times a year.

FOUNDERS OF THE JOURNAL:
Tula State University,
Tula regional branch of the Academy of Medical and Technical Sciences.

SCIENTIFIC SUPPORT:
The Russian Academy of Medical Sciences, The European Academy of Natural Sciences, Russian Academy of Natural Sciences, The International Academy of Sciences, The International Informatization Academy, Petrovskaya Academy of Arts and Sciences, The International Academy of ecology and personal and social safety, The International Academy of creative Endeavors, The Academy of Medical and Technical Sciences, The Academy of Engineering Sciences, The Russian Academy of Natural History, The Academy of Fundamental Sciences.

FINANCIAL SUPPORT:
Surgut State University.

Editor-in-Chief:
Khadartsev A.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula).
Deputy Editor-in-Chief:
Es'kov V.M. – Doctor of Physics and Mathematical Sciences, prof. (Surgut);
Iashin A.A. – Doctor of Biological Sciences, Doctor of Technical Sciences, prof. (Tula).

Public council:
Kosenok S.M. – Doctor of Pedagogical Sciences, prof. (Surgut); Leonov B.I. – Doctor of Technical Sciences (Moscow); Taimazov V.A. – Doctor of Pedagogical Sciences, prof. (Saint Petersburg); Frolov V.N. – Doctor of Technical Sciences, prof. (Voronezh); Khrupachev A.G. – Doctor of Technical Sciences (Tula); Tskipuri I.I. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula); Bachmeier Miroslav – Praga2Agenci medical advisor (Czech Republic); Fitzgerald Edward – Doctor of Medical Science, prof. (США); Khuchinsky Tadeusz – head of Department Professor of Warsaw University (Poland); Kofler Walter Wolgan – Doctor of Medical Science, prof. (Austria); Tyminsky Vladimir – prof., Präsident Europäische Akademie der Naturwissenschaften e.v. (Germany).

Edited by E.V. Dronova
Editor E.V. Dronova
Translation I.S. Danilova.
Computer make-up and production of original cover E.V. Dronova

ADDRESS OF THE EDITORIAL OFFICE:
Tula, Smidovich St., Bld. 12; Tula State University, 200028, phone: +7 (4872) 73-44-73,
e-mail: medins@tsu.tula.ru or vnmt@yandex.ru,
website: http://vnmt.ru (english),
http://medtsu.tula.ru (russian).

Editorial Board:
Agasarov L.G. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Atlas E.E. – Doctor of Medical Science, associate prof. (Tula);
Badtieva V.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Belichenko O.I. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Belyaeva E.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Borisova O.N. – Doctor of Medical Science, associate prof. (Tula);
Borsukov A.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Smolensk);
Brin V.B. – Doctor of Medical Science, prof. (Vladikavkaz);
Bulgakov S.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Venevtseva Yu.L. – Doctor of Medical Science (Tula);
Volkov V.G. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Vorontsova Z.A. – Doctor of Biological Sciences, prof. (Voronezh);
Gontarev S.N. – Doctor of Medical Science, prof. (Belgorod);
Griazev M.V. – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, prof. (Tula);
Guliaev I.V. – acad. RAS, Doctor of Technical Sciences, prof. (Moscow);
Guseinov A.Z. – Doctor of Medical Science, prof. (Saint Petersburg);
Esaulenko I.E. – Doctor of Medical Science, prof. (Voronezh);
Zilov V.G. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Ivanov D.V. – Doctor of Medical Science, Sc.D. (Moscow);
Kireev S.S. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Kitiashvili I.Z. – Doctor of Medical Science, prof. (Astrakhan);
Kozyrev O.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Smolensk);
Kolesnikov S.I. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Kupeev V.G. – Doctor of Medical Science, (Moscow);
Lastoveckiy A.G. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Lishchuk A.N. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Malygin V.L. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Mariyko Vladimir Alekseevich - Doctor of Medical Science, associate prof. (Tula);
Minakov E.I. – Doctor of Technical Sciences, prof. (Tula);
Naumova E.M. – Doctor of Biological Sciences (Tula);
Nesmeianov A.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Saint Petersburg);
Nikitin M.V. – Corr. Member of RAS, Doctor of Medical Science (Gelendzhik);
Nikityuk D.B. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Pavlov Oleg Georgievich - Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Pal'tsev M.A. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Sapozhnikov V.G. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Sorotskaya V.N. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Subbotina T.I. – Doctor of Medical Science, associate prof. (Tula);
Teodorovich O.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Tutel'ian V.A. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Fudin N.A. – Corr. Member of RAS, Doctor of Biological Sciences, prof. (Moscow);
Khadartseva K.A. – Doctor of Medical Science, associate prof. (Tula);
Khetagurova A.K. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Khritinin D.F. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Khromushin V.A. – Doctor of Biological Sciences, candidate of Technical Sciences (Tula).
Tsygankov B.D. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Chestnova T.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Chuchalin A.G. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Yurgel' N.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Bredikis Jurgis Juozo – Doctor of Medical Science, emerit-prof. (Lithuania).

Editorial Council:
Ailamazyan E.K. – acad. RAS, Doctor of Medical Science, prof. (Saint Petersburg);
Zherebtsova V.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Tula);
Zarubina T.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Zurnadzhyantch V.A. – Doctor of Medical Science, prof. (Astrakhan);
Midlenko V.I. – Doctor of Medical Science, prof. (Ulyanovsk);
Polunina O.S. – Doctor of Medical Science, prof. (Astrakhan);
Smolenskii A.V. – Doctor of Medical Science, prof. (Moscow);
Filatova O.E. – Doctor of Biological Sciences, prof. (Surgut);
Chamsutdinov N.U. – Doctor of Medical Science, prof. (Makhachkala);
Chemeris N.K. – Doctor of Biological Sciences, prof. (Moscow);
Taborsky Milosh. – PhD (Czech Republic);
Weidong Pan – PhD (UTS), MeD (NAAU, China), BSc (WU, China) (China).

СОДЕРЖАНИЕ **Стр.**

РАЗДЕЛ I. КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА (14.01.00)

Ю.С. Апенченко, С.Ф. Гнусаев, Д.Н. Розов, И.И. Иванова, Е.Г. Королюк, В.Л. Красненков, И.В. Березовский. Течение бронхиальной астмы в сочетании с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью у детей 7

Г.М. Чибисова, С.В. Хабаров. Комплексное определение онкомаркеров *CA* 125, *HE* 4 и индекса *ROMA* как фактор прогноза развития рака яичников 15

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОБЩЕГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ», посвященная 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

Е.В. Енькова, Д.А. Атякшин, О.В. Гайская, О.В. Хоперская. Оценка популяции тучных клеток децидуальной ткани и статуса витамина *D* у женщин с неразвивающейся беременностью в эмбриональном периоде 21

Ю.А. Ипполитов, А.В. Костюченко, А.В. Латынин, Е.В. Конторина, А.А Савина, Ю.С. Рассказова. Повышение адгезионных возможностей светоотверждаемых однокомпонентных композиционых стоматологических герметиков к твердым тканям временного зуба, путем воздействия магнитного поля на расходный материал до пломбирования 28

З.А. Воронцова, О.Д. Жиляева, А.С. Гуреев. Морфофункциональные особенности плаценты при акушерской и соматической патологии (обзор литературы) 34

З.А. Воронцова, Н.А. Замятина. Морфологические критерии гематореологических свойств крови в организме женщин при оперативном родоразрешении 44

РАЗДЕЛ II. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ (14.03.00)

Н.А. Каратыгин, И.И. Коробейникова. Пространственные характеристики θ-ритма ЭЭГ человека и временные параметры выполнения зрительно-моторных задач 49

Е.В. Семелева, И.А. Громова, Е.В. Блинова, М.М. Гераськина, Д.С. Блинов, Л.В. Ванькова, А.В. Новиков, А.Н. Чудайкин. Церебропротекторное действие магниевого производного органической кислоты 58

Л.В. Покуль, Н.А. Чугунова, И.Е. Нестеренко, М.Н. Ковалева. Внутривенное лазерное освечивание крови как этиопатогенетический аспект терапии наружного эндометриоза 64

С.Ю. Золичева, А.В. Тарасов, О.И. Беличенко, А.В. Смоленский. Современный Взгляд На Некоторые Проблемы Детско-Юношеского Спорта 76

Н.В. Шарапова, Д.С. Карманова, А.А. Петрова, С.И. Красиков. Длительное поступление в организм нетоксических доз бензола приводит к развитию окислительного стресса 83

Э.А. Овчарук, С.В. Хабаров, К.А. Хадарцева. Локальное введение липосомальной эмульсии «Фламена» в лечении хронического эндометрита с аутоиммунной дезадаптацией 87

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОБЩЕГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ», посвященная 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

А.Н. Гансбургский, А.В. Яльцев, К.О. Азарова. Дополнительные мышечные структуры артерий и их роль в развитии инфарктов плаценты 96

Н.Е. Гималдинова, Е.Н. Игнатьева, Л.А. Любовцева, Р.Ф. Гималдинов, О.В. Воробьева. Влияние циклоферона на распределение нейроаминов в биоаминсодержащих структурах селезенки 101

В.С. Гордова, В.Е. Сергеева, А.И. Коршунова, Е.А. Григорьева, В.А. Голенкова, С.С. Смирнова, О.В. Павлова, С.А. Ястребова, П.Б. Карышев, С.П. Сапожников. Гистаминсодержащие клетки лимфоидных органов лабораторных грызунов в эксперименте 107

В.А. Изранов, В.С. Гордова. Компьютерная анимация как способ укрепления междисциплинарных связей анатомии и гистологии 116

Н.И. Гуляева, Г.Г. Фрейнд, К.В. Шмагель, Н.Г. Шмагель, Л.Б. Королевская, Е.В. Сайдакова. Морфофункциональные особенности лимфатических узлов у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих вирусологически эффективную антиретровирусную терапию 120

О.Н. Гуськова, О.Н. Скарякина. Особенности ангиогенеза в пиогенной гранулеме 127

С.В. Диндяев, Ф.А. Ромашин, Д.В. Касаткин. Морфофункциональная характеристика биоаминового обеспечения миометрия крыс в процессе беременности и послеродового периода 131

А.В. Дробленков, А.В. Федоров, Р.Н. Маградзе, П.Д. Шабанов, Л.Г. Прошина. Взаимодействие нейронов орексинергического и дофаминергического ядер ствола мозга в механизме алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде 137

И.М. Дьячкова, О.В. Павлова, В.Е. Сергеева. Влияние кальция и тетрайодтиронина на морфофункциональные характеристики катехоламинсодержащих структур тимуса 142

Л.М. Ерофеева. Гистофизиологическая характеристика популяции тучных клеток в легких крыс при длительном воздействии микрогравитации 148

В.Б. Зайцев, Н.С. Федоровская, Л.М. Железнов. Морфометрические особенности структуры Селезенки человека 153

С.А. Кащенко, А.А. Захаров. Особенности строения гонад половозрелых животных в условиях метотрексат-индуцированной иммуносупрессии 160

А.В. Иванов. Анализ морфофункциональных особенностей различных зон сухожильного комплекса в фибропластическую фазу репаративной регенерации. 166

С.Н. Золотарева, В.В. Логачева. Оценка модификации эффектов γ-излучения в условиях эксперимента 171

И.А. Колесникова, Н.Н. Буденная, Ю.С. Северюхин, К.Н.Ляхова, Д.М. Утина. Анализ морфофункционального состояния структур головного мозга экспериментальных животных при облучении протонами в отдаленный период 177

Г.М. Могильная, Е.В. Фомичева, Ю.Е. Блатт. Морфологические преобразования импланта из полимолочной кислоты при его субдермальной локализации 182

Н.А. Насонова, Н.Т. Алексеева, Д.А. Соколов, А.Г. Кварацхелия, Н.Н. Писарев, А.А. Заварзин, С.О. Фетисов, Л.А. Лопатина. Изменения нейронного и глиального состава бледного шара в различные сроки пострадиационного периода 187

А.В. Павлов, Е.А. Крайнова, С.А. Костров, О.А. Фоканова, Т.В. Кораблева. Переход к преподаванию гистологии на основе технологии *whole-slide imaging*: технические и организационные аспекты 194

К.Г. Кемоклидзе, Н.А. Тюмина, Д.А. Пухов. Низковакуумная сканирующая электронная микроскопия мастоцитов надпочечника с рассчётом количества секреторных гранул на клетку и редким образцом митотической цитотомии 198

А.В. Павлов, А.В. Безденежных. Пролиферативная и секреторная активность фолликулярных тироцитов при различных режимах мышечной деятельности 202

РАЗДЕЛ III. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ (03.01.00)

Б.Л. Ихлов. Применение радиопротекторов в геронтологии 209

А.А. Гаранин. Компьютерная реовазография в оценке циклической сократительной активности сосудистого русла большого круга кровообращения 216

Н.Н. Гранатович, Е.Р. Фролова. Региональные аспекты мертворождаемости 223

К.Ю. Китанина, В.А. Хромушин, Э.М. Наумова, С.Ю. Федоров. Многофакторный статистический анализ с использованием алгебраической модели конструктивной логики на примере болезней органов пищеварения 227

О.А. Ведясова, И.Ф. Ерега, И.Р. Ерега, Р.Б. Тен. Матрицы парных сравнений выборок в оценке хаотической динамики параметров кардиоритма женского населения Югры 237

П.А. Руденко. Разработка алгоритма краткосрочного прогнозирования концентрации глюкозы в крови для применения в составе аппарата автоматизированной инсулинотерапии 244

А.В. Лещенко. Изучение количественных характеристик измерительного процесса в оптической компьютерной микрограмметрии и томографии 250

На 1-й странице обложки: В.Д. Поленов «Заросший пруд», 1879.

CONTENTS **Page**

SECTION I. CLINICAL MEDICINE (14.01.00)

YU.S. Apenchenko, S.F. Gnusaev, D.N. Rozov, I.I. Ivanova, E.G. Koroluk, V.L. Krasnenkov, I.V. Berezovsky. Course of bronchial asthma with gastroesophageal reflux disease in children 7

G.M. Chibisova, S.V. Khabarov. Complex determination of oncoprotein *ca*125, *he*4 and *roma* index as a prognosis of ovarian cancer 17

MATERIALS OF SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION "GENERAL HISTOLOGICAL ASPECTS OF MODERN MEDICINE" devoted to the 100th anniversary of the Military State Burdenko Medical University

E.V. Enkova, D.A. Atiakshin, O.V. Gaiskaya, O.V. Hoperskaya. Evaluation of the population of the mast cells of the decidual tissue and the status of vitamin d in women with undeveloped pregnancy in the embryonic period 21

Yu.A. Ippolitov, A.V. Kostyuchenko, A.V. Latinin, E.V. Kontorina, A.A Savvina, Yu. S Rasskazova. Improvement of adhesion opportunities of light-conformed one-component composite dentistry hermitics to solid tissue of the temporal tooth through the impact of the magnetic field on supply material before sealing 28

Z.A. Vorontsova, O.D. Zhilyaeva, A.S. Gureev. Morphofunctional peculiarities of placentes in accuracy and somatic pathology (literature review) 34

Z.A. Vorontsova, N.A. Zamyatin. Morphological criteria of the hematorheological properties of the blood in the organism of women at the operational release 44

SECTION II. MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES (14.03.00)

N.A. Karatygin, I.I. Korobeynikova. The spatial characteristics of the θ-rhythm of EEG and temporal parameters of execution of visual-motor tasks 49

E.V. Semeleva, I.A. Gromova, E.V. Blinova, M.M. Geraskina, D.S. Blinov, L.V. Vankova, A.V. Novikov, A.N. Chudajkin. Brain-protective activity of magnesium-containing compound of an organic acid 58

L.V. Pokul, N.A. Chugunova, I.E. Nesterenko, M.N. Kovaleva. Intravenous laser blood illumination as an ethiopathogenic aspect of therapy of outer endometriosis 64

S.Yu. Zolicheva, A.V. Tarasov, O.I. Belichenko, A.V. Smolensky. Modern view of some children and youth sports problems 76

Sharapova N.V., Karmanova D.S., Petrova A.A., Krasikov S.I. A long-term institution in the organism of noxoxic doses of benzene causes the development of oxidative stress 83

E.A. Ovcharuk, S.V. Khabarov, K.A. Khadartseva. Application of liposomal emulsion «Flamena» in the treatment of chronic endometritis with autoimmune desadaptation 87

MATERIALS OF SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION "GENERAL HISTOLOGICAL ASPECTS OF MODERN MEDICINE" devoted to the 100th anniversary of the Military State Burdenko Medical University

A.N. Gansburgsky, A.V. Yaltsev, K.O. Azarova. Additional muscle structures of arteries and their role in the development of infarcts placents 96

N.E. Gimaldinova, E.N. Ignatieva, L.A. Lyubovtseva, R.F. Gimaldinov, O.V. Vorobeva. The effects of cycloferon on the distribution of neuroamines in bioamine-containing structures of the spleen 101

V.S. Gordova, V.E. Sergeeva, A.I. Korshunova, E.A. Grigorieva, V.A. Golenkova, S.S. Smirnova, O.V. Pavlova, S.A. Yastrebova, P.B. Karyshev, S.P. Sapozhnikov. Histamine containing cells of lymphoid organs of laboratory rodents in experiment 107

V.A. Izranov, V.S. Gordova. Computer animation as a way of strengthening interdisciplinary connections anatomy and histology 116

N.I. Gulyaeva, G.G. Freind, K.V. Shmagel, N.G. Shmagel, L.B. Korolevskaya, E.V. Saidakova. Morphofunctional specifities of lymph nodes in HIV-infected patients on virologically efficient antiretroviral therapy 120

O.N. Guskova, O.N. Skariakina. Features of angiogenesis in pyogenic granuloma 127

S.V. Dindyaev, F.A. Romashin, D.V. Kasatkin. Morphofunctional characteristics of bioamic providing of rats' myometry during pregnancy and the postpartum period 131

A.V. Doblenkov, A.V. Fedorov, R.N. Magradze, P.D. Shabanov, L.G Proshina. Interaction of orexinergic and dopaminergic brain stem nuclei neurons in the mechanism of alcoholic dependence, formed in the perinatal period 137

I.M. Djachkova, O.V. Pavlova, V.E. Sergeeva. Calcium and tetraiodothyronine effects on morphofunctional characteristics of thymus catecholamine-containing structures 142

L.M. Erofeeva. Histophysiological characteristics of population of mast cells in lungs of rats at long-term exposure microgravitation 148

V.B. Zaitsev, N.S. Fedorovskaya, L.M. Zheleznov. Morphometric features of the structure of the human spleen 153

S.A. Kashchenko, A.A. Zakharov. Features of the gonad structure of mature animals under the conditions of methotrexate-induced immunosupression 160

A.V. Ivanov. Analysis of morphofunctional features of different zones of the tendon complex in the fibroplastic phase of reparative regeneration 166

S.N. Zolotareva, V.V. Logacheva. Assessment of modification effects γ-radiations in experimental conditions 171

I.A. Kolesnikova, N.N. Budennay, Yu.S. Severiukhin, K.N. Lyakhova, D.M. Utina. Analysis of morphofunctional state of experimental animals brain fields under proton irradiation over the long period 177

G.M. Mogilnaya, E.V. Fomicheva, Y.E. Blatt. Morphological transformations of the implant from the polylactic acid at its subdermal localization 182

N.A. Nasonova, N.T. Alekseeva, D.A. Sokolov, A.G. Kvaratskheliya, N.N. Pisarev, A.A. Zavarzin, S.O. Fetisov, L.A. Lopatina. The changes in the neural and glial composition of the globus pallidus in different terms of the post-radiation period 187

A.V. Pavlov, E.A. Kraynova, S.A. Kostrov, O.A. Fokanova, T.V. Korableva. Teaching histology on the basis of whole-slide imaging technology: technical and organizational aspects 194

K.G. Kemoklidze, N.A.Tiumina, D.E. Pukhov. Low-vacuum scanning electron microscopy of the adrenal mast cell with calculation of the amount of secretory granules per cell and a rare pattern of mitotic cytotomy 198

A.V. Pavlov, A.V. Bezdenezhnykh. Proliferative and secretorial activity of follicular thyrocytes in various modes of motor activity 202

SECTION III. PHYSICAL AND CHEMICAL BIOLOGY (03.01.00)

B.L. Ikhlov. Application of the radioprotectors in gerontology 209

A.A. Garanin. Computer rheovasography in the evaluation of cyclic contractile activity of the vascular bed of a large blood circulation 216

N.N. Granatovich, E.R. Frolova. Regional features of mortinatality 223

K.Yu. Kitanina, V.A. Khromushin, E.M. Naumova, S.Yu. Fedorov. Multivariate statistical analysis using an algebraic model of constructive logic as exemplified by diseases of the digestive system 227

O.A. Vedyasova, I.F. Erega, I.R. Erega, R.B. Ten. Pair wise comparison matrices of samples in asessment of chaotic dynamics of heart rate of Ugra male population 237

A.P. Rudenko. Development of algorithm of short-term prediction of glucose concentration in blood for use in the apparatus of an automated insulin therapy 244

A.V. Leshchenko. Research of the measuring process in an optical microscopic computer tomography 250

On the 1nd page of the cover: V.D. Polenov "Overgrown pond", 1879.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 7–14
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 7–14

Раздел I

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА (14.01.00)

Section I

CLINICAL MEDICINE (14.01.00)

УДК: [616.248+616.329-002]-036-053.2 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16057

ТЕЧЕНИЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В СОЧЕТАНИИ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ У ДЕТЕЙ

Ю.С. АПЕНЧЕНКО[*], С.Ф. ГНУСАЕВ[*], Д.Н. РОЗОВ[**], И.И. ИВАНОВА[*], Е.Г. КОРОЛЮК[*], В.Л.КРАСНЕНКОВ[*], И.В. БЕРЕЗОВСКИЙ[*]

[*]*Тверской государственный медицинский университет, ул. Советская, д. 4, Тверь, 170100, Россия*
[**]*Детская областная клиническая больница, наб. Степана Разина, д. 23, Тверь, 170100, Россия*

Аннотация. Статья посвящена проблеме коморбидности бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей школьного возраста. С целью установления влияния патологического гастроэзофагеального рефлюкса на течение бронхиальной астмы и определения возможностей антисекреторной терапии обследован 141 ребенок школьного возраста с бронхиальной астмой. Всем детям проводилась оценка функции внешнего дыхания, при наличии жалоб со стороны пищеварительного тракта – эзофагогастродуоденоскопия и 24-часовая pH-метрия. В результате пациенты были разделены на две группы: 1 – дети с бронхиальной астмой и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, 2 – дети с бронхиальной астмой без патологического рефлюкса. Полученные результаты показали, что клинические и анамнестические данные, характеризующие поражение дыхательной системы, были более неблагоприятными при сочетании бронхиальной астмы с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. У детей 1 группы была выше интенсивность респираторных симптомов, отмечалось более выраженное нарушение бронхиальной проходимости по данным спирографии по сравнению со 2 группой. При сочетании бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни реже выявлялась отягощенная наследственность по астме, сенсибилизация к бытовым аллергенам по результатам скарификационных проб, что может свидетельствовать о смешанном генезе бронхиальной обструкции у детей 1 группы. При включении в программу лечения антисекреторных препаратов происходило более быстрое купирование не только диспепсических, но и респираторных симптомов, более выраженное улучшение показателей функции внешнего дыхания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, дети, 24-часовая *pH*-метрия.

Актуальность проблемы. В настоящее время большое внимание российскими и зарубежными исследователями уделяется проблеме сочетания *гастроэзофагеальной рефлюксной болезни* (ГЭРБ) и *бронхиальной астмы* (БА) у детей. Большинство исследователей понимают под гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью спонтанное, регулярно повторяющееся возникновение заброса в пищевод желудочного или дуоденального содержимого, что приводит к возникновению характерных симптомов: эзофагеальных и экстраэзофагеальных. ГЭРБ, патология относительно новая, уже названа болезнью 21 века. Это связано прежде всего с высокой распространенностью характерных жалоб в популяции (периодическую изжогу испытывают до 40% населения) и возможностью развития метаплазии пищеводного эпителия (барреттовская трансформация), что в конечном счете может иметь неблагоприятный исход. В «классическом» варианте синдром Барретта обычно встречается у взрослых, однако на актуальность проблемы указывает высокая частота ГЭРБ у детей с учетом длительности формирования метапластических процессов. В детском возрасте более характерно наличие

экстраэзофагеальных симптомов ГЭРБ и атипичное ее течение, что усложняет постановку диагноза.

Бронхиальная астма педиатрам давно известна, однако остается в прицеле внимания в связи с возрастающей частотой и тяжестью течения. Это наиболее социально и экономически значимое аллергическое заболевание. В настоящее время подтверждена ключевая роль лежащего в основе бронхиальной астмы воспалительного процесса, определено, что значимым фактором риска развития сенсибилизации является взаимодействие генотипа с окружающей средой. Достигнуты определенные успехи: выработан единый подход к диагностике и лечению астмы у детей, снизилась летальность и инвалидизация больных. Однако, несмотря на значительные успехи клинической фармакологии, лечение астмы у детей остается сложной задачей.

Оба заболевания развиваются в молодом возрасте, приобретают хроническое течение и меняют качество жизни пациента. Анатомическая и функциональная взаимосвязь органов дыхания и пищеварения, общность эмбрионального происхождения, кровоснабжения, иннервации объясняет частое сочетание нарушения функции этих органов [9].

Впервые приступ удушья, связанный с аспирацией желудочного содержимого, был описан *Osler* в 1892 году. *Mendelson, Friedland* в середине прошлого века продолжили дальнейшее изучение проблемы, при этом был введен термин «рефлюкс-индуцированная бронхиальная астма». По данным различных авторов *гастроэзофагеальный рефлюкс* (ГЭР) имеется у 50-70% детей с БА [3,13]. Однако кашель может провоцировать ГЭР *per se* [10]. Еще одной стороной проблемы является тот факт, что ГЭРБ имеет внепищеводные симптомы, которые в первую очередь проявляются хроническим кашлем и симптомами бронхообструкции [4].

Влияние ГЭР на развитие БА связывают с двумя механизмами. Первый – механизм микроаспирации, когда при длительном воздействии кислого желудочного содержимого на дыхательные пути возможно повреждение слизистой оболочки, ведущее к развитию бронхоспазма. Второй механизм – рефлекторный, когда раздражение эзофагеальных рецепторов в результате рефлюкса приводит к активации блуждающего нерва; влияние на бронхиальное дерево при этом проявляется в виде рефлекторного кашля или бронхоспазма [2]. В настоящее время данные о сочетании ГЭРБ и БА противоречивы. Имеются сообщения о том, что у больных бронхиальной астмой, ассоциированной с рефлюксной болезнью, частота приступов удушья в течение суток такая же, как и при БА без ГЭРБ, но в ночное время и в ранние утренние часы приступы возникают значительно чаще [5]. Есть мнение, что большинство респираторных симптомов не совпадают с эпизодами ГЭР [11]. По мнению Ю.М. Каган и соавт. (2006), связь ГЭР и БА определяется не всегда, особенно в случаях тяжелого течения астмы, и термин «рефлюкс-индуцированная бронхиальная астма» неправомочен. Тем не менее, автор признает, что в легких случаях рефлюкс может играть провоцирующую роль [3]. М.Г. Арамэ и соавт. (2010) считает, ГЭР не только фактором-триггером астматических приступов, но и неиммунным патогенетическим звеном в механизме развития БА у детей [1]. Не исключено, что атопическая форма БА дебютирует без участия рефлюкса, однако взаимное влияние заболеваний друг на друга несомненно существует [7,8].

Для практического здравоохранения наиболее актуальным является тот факт, что лечащим врачом при сборе анамнеза, объективном и дополнительном обследовании ребенка с БА основное внимание уделяется жалобам и симптомам, отражающим функциональное состояние бронхиального дерева. Кроме того, дети сами акцентируют внимание лишь на респираторных жалобах, не указывая жалобы со стороны других органов и систем. Несомненно, это связано с тем, что проявления бронхообструкции являются наиболее яркими и наиболее тяжелыми в клинической картине коморбидных состояний, однако зачастую это приводит к диагностическим ошибкам и длительному безуспешному лечению в связи с рефрактерностью к традиционной терапии.

Цель исследования – установить влияние патологического гастроэзофагеального рефлюкса на течение бронхиальной астмы у детей и оценить возможности антисекреторной терапии.

Материалы и методы исследования. Обследован 141 ребенок школьного возраста (7-17 лет) с БА: 24 – с легкой степенью, 60 – со средней степенью тяжести, 57 детей – с тяжелой БА. Исследование было продольным ретроспективным по типу случай-контроль.

Критерии включения в исследование явились: возраст от 7 до 17 лет, наличие информированного согласия на обследование и лечение, установленный на основании рекомендаций Национальной программы диагноз БА [6].

Критерии исключения: возраст детей до 7 лет, отказ родителей или пациента от инструментального обследования, наличие тяжелой сопутствующей патологии, которая могла повлиять на течение основного заболевания.

Всем детям проводилось клинико-анамнестическое обследование, оценка *функции внешнего дыхания* (ФВД), при наличии жалоб со стороны пищеварительной системы – *эзофагогастродуоденоскопия* (ЭГДС), суточная *pH*-метрия пищевода и желудка для выявления патологического рефлюкса.

При изучении жалоб и анамнеза учитывались сведения, полученные от детей и родителей, а также данные из историй развития ребенка и историй болезни. Для оценки диспепсических жалоб и респираторных симптомов использовалась балльная шкала, по которой каждый признак оценивался в зависимости от его выраженности:

– 0 баллов – отсутствие признака,
– 1 балл – умеренно выраженный признак,
– 2 балла – выраженный признак,
– 3 балла – резко выраженный признак.

Проведение скарификационных кожных проб с аллергенами проводилось в период ремиссии или после снятия обострения бронхиальной астмы. Накануне отменялись антигистаминные и симпатомиметические средства. Пробы ставились на передней поверхности предплечья в виде нанесения 1 капли аллергена и последующей оценкой результатов через 15 минут. При этом сравнивали кожную реакцию в месте нанесения аллергена с реакцией на контрольное вещество (1% раствор гистамина). Положительными считались пробы при появлении папулы диаметром 5 мм и более.

Спирометрическое исследование (оценка ФВД) проводилось на спирографе «*Fukuda DENSHI*» с определением объемных и скоростных показателей:

– *жизненная емкость легких* (ЖЕЛ),
– *форсированная жизненная емкость легких* (ФЖЕЛ),
– *объем форсированного выдоха за 1 секунду* ($ОФВ_1$),
– *максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25% ФЖЕЛ* ($МОС_{25}$),
– *максимальная объемная скорость выдоха на уровне 50% ФЖЕЛ* ($МОС_{50}$),
– *максимальная объемная скорость выдоха на уровне 75% ФЖЕЛ* ($МОС_{75}$).

Полученные результаты выражались в процентах по отношению к расчетной должной величине (автоматический расчет на спирографе).

Инструментальное обследование верхних отделов пищеварительного тракта детям с БА проводилось при наличии жалоб на боли в животе или диспепсию, только в постприступном периоде. При эзофагогастродуоденоскопии применялась аппаратура фирмы «*Olympus*» (эндоскопы *GIF P*-20 и *GIF PQ*-20). Суточная *pH*-метрия верхних отделов пищеварительного тракта проводилась с использованием ацидогастромонитора «Гастроскан-24» («Исток-Система»).

Для оценки «кислых» ГЭР использовались общепринятые показатели, предложенные *DeMeester* [12]. Критерием выявления патологического ГЭР являлось обнаружение более 46 эпизодов кислых рефлюксов и (или) общего времени с *pH*<4,0 в дистальном отделе пищевода в течение 1 часа и более во время суточного мониторирования. Подъёмы *pH* в пищеводе выше 7,5, регистрируемые более 27 раз в сутки, расценивались как патологический щелочной ГЭР.

Все дети в зависимости от данных 24-часовой pH-метрии были разделены на 2 группы: 1 группу (основную) составили дети с БА в сочетании с патологическим рефлюксом, что при наличии соответствующей симптоматики расценивалось как ГЭРБ (94 ребенка), во 2 группу (группу сравнения) вошли дети с БА без ГЭРБ (47 детей).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы *Microsoft Excel*. Использовали параметрические и непараметрические критерии (Стьюдента, Фишера). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. У обследованных детей с бронхиальной астмой достоверных различий в течении антенатального и интранатального периода в обеих группах выявлено не было. Генеалогический анамнез по заболеваниям пищеварительного тракта был отягощен при сочетании БА и ГЭРБ у 23,4% детей, в группе сравнения – у 14,9% (p>0,05). В то же время отягощенная наследственность по

бронхиальной астме определялась у 27,7% детей основной группы и у 42,6% детей группы сравнения (p<0,05). Это косвенным образом указывает на взаимное влияние ГЭРБ и БА в 1 группе, в то время как во 2 группе на развитие астмы, вероятно, оказывала влияние в основном атопия.

При анализе диспепсических жалоб установлена высокая распространенность симптомов ГЭРБ у детей обеих групп. Так, жалобы на периодическое возникновение тошноты предъявляли 86,2% детей 1 группы и 72,3% детей 2 группы (p<0,05); на рвоту – 84,0% и 57,4% детей соответственно (p<0,001); на изжогу – 66,0% и 55,3% детей соответственно (p>0,05).

Сопутствующая патология пищеварительного тракта была выявлена у подавляющего большинства обследованных детей, атопический дерматит – у каждого пятого ребенка в обеих группах. Наличие сенсибилизации к бытовым аллергенам по результатам скарификационных проб с небактериальными антигенами (домашняя пыль, клещ домашней пыли, перо подушки, библиотечная пыль) определялось у 42,6% детей 1 группы и у 66,0% детей 2 группы (p<0,01), что еще раз подтверждает больший вклад атопии в развитие бронхиальной астмы во 2 группе.

Были проанализированы анамнестические данные, характеризующие течение БА у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью заболевания и стажем заболевания не менее 1 года (табл. 1).

Таблица 1

Характер течения БА у детей при наличии и отсутствии ГЭРБ, *M±m*

Показатель	1 группа (n=94)	2 группа (n=47)
Стаж заболевания, лет	6,5±0,44	5,1±0,65
Первый эпизод бронхообструктивного синдрома, лет	3,7±0,41	5,1±0,75
Частота приступов одышки за последний год	1,9±0,30*	0,9±0,33

Примечание: достоверность различий между 1 и 2 группами: * – p<0,05

Из представленных данных следует, что течение БА в группе детей с сочетанием с ГЭРБ характеризовалось более частыми обострениями, первый эпизод бронхообструкции наблюдался в более раннем возрасте и, как следствие, у этих детей стаж заболевания был более длительным.

Интенсивность респираторных симптомов в период обострения, выраженная в баллах, представлена в табл. 2.

Таблица 2

Выраженность респираторных симптомов у детей в период обострения БА (баллы), *M±m*

Симптом	1 группа (n=94)	2 группа (n=47)
Кашель	1,5±0,19*	0,9±0,18
Хрипы в легких	1,0±0,19*	0,5±0,18

Примечание. Достоверность различий между 1 и 2 группами: * – p<0,05

Интенсивность кашля и аускультативные изменения в легких были более выражены у детей 1 группы по сравнению с детьми 2 группы (p<0,05).

Таким образом, клинические и анамнестические данные, характеризующие поражение дыхательной системы, были более неблагоприятными при сочетании бронхиальной астмы с рефлюксной болезнью.

При проведении ЭГДС выявлено, что эзофагиты выявлялись одинаково часто в 1-й группе (55,3% детей) и во 2-й группе (46,8% детей).

По результатам суточной *pH*-метрии пищевода патологические ГЭР были выявлены у 67,0% обследованных детей 1 группы. Установлено ухудшение показателей интрапищеводного *pH* у детей в постприступном периоде по сравнению с показателями *pH*-метрии у детей в периоде ремиссии. Так, общее число «кислых» рефлюксов у детей со среднетяжелой и тяжелой степенью БА в постприступном периоде равнялось 31,0±5,29 и 28,3±4,80 соответственно и время с *pH*<4,0 (%) составило 6,3±0,96 и 6,3±2,27 соответственно, что значительно превышало число рефлюксов в период ремиссии (18,0±2,12 и 16,2±2,24 соответственно) и общее время с *pH*<4,0 (3,9±0,51 и 2,9±0,41 соответственно), разница статистически достоверна (p<0,05).

Таким образом, не только сопутствующая ГЭРБ влияет на течение астмы, но и наличие обострения БА ухудшает показатели, характеризующие патологический рефлюкс.

Для оценки бронхиальной проходимости всем детям проводили исследование функции внешнего дыхания. При анализе показателей спирометрии наиболее значимые различия между детьми в группах обследования были

выявлены в постприступном периоде (табл. 3).

Таблица 3

Показатели функции внешнего дыхания у детей с бронхиальной астмой в постприступный период (%), *M±m*

Показатель	*среднетяжелая* (n=*60*)		*тяжелая* (n=*57*)	
	1 группа	*2 группа*	*1 группа*	*2 группа*
ЖЕЛ	75,9±6,49	88,2±3,91	77,4±3,65	81,4±1,92
ФЖЕЛ	68,9±4,17	82,7±3,70*	67,2±2,97	79,9±1,91***
$ОФВ_1$	57,9±4,05	69,7±3,55*	58,8±2,96	70,8±2,04**
$МОС_{25}$	43,1±4,75	52,3±2,92	45,5±3,66	54,6±2,49
$МОС_{50}$	41,0±3,20	49,3±6,04	42,2±2,98	51,0±3,00
$МОС_{75}$	42,9±5,30	46,7±6,61	40,1±2,51	48,8±2,67*

Примечание: достоверность различий между 1 и 2 группами: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001

При анализе показателей ФВД установлено, что у пациентов с БА в сочетании с ГЭРБ отмечено более выраженное нарушение бронхиальной проходимости по сравнению с детьми без патологического рефлюкса. Наиболее четко различия между 1 и 2 группами прослеживаются при тяжелой бронхиальной астме.

Все дети с бронхиальной астмой в постприступном периоде получали базисное противовоспалительное лечение. Помимо этого 42 детям с БА в сочетании с патологическим ГЭР назначались ингибиторы протонной помпы (рабепразол) по 20 мг в сутки в течение 2 недель. Группу сравнения составил 31 ребенок с БА в сочетании с патологическим ГЭР, которым антисекреторная терапия не проводилась.

Таблица 4

Респираторные симптомы у детей с бронхиальной астмой через 7 дней лечения (баллы), *M±m*

Жалобы	с антирефлюксной терапией (n=10)		без антирефлюксной терапии (n=11)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Приступы одышки	1,5±0,27	0,5±0,17**	1,6±0,27	1,0±0,33
Кашель	1,1±0,23	0,2±0,11**	1,4±0,22	0,6±0,16**
Ночные симптомы	1,0±0,23	0,1±0,10**	0,8±0,20	0,5±0,16
Хрипы в легких	0,6±0,17	0,1±0,07*	0,5±0,27	0,1±0,10

Примечание: достоверность различий между группами до лечения и после лечения: * – p<0,05; ** – p<0,01

На фоне приема антисекреторных препаратов у детей с БА достоверно уменьшилась выраженность диспепсических симптомов. Кроме того, у всех детей, принимавших рабепразол, к 7-му дню лечения отмечена более быстрая положительная динамика и в отношении респираторных симптомов по сравнению с аналогичными показателями у детей, не получавших антисекреторные препараты (табл. 4).

Из приведенных данных следует, что через 7 дней от начала терапии у всех детей с бронхиальной астмой отмечалось снижение интенсивности оцениваемых респираторных симптомов, однако положительная динамика была более выражена у пациентов, получавших помимо базисного лечения антисекреторные препараты: снизилась частота приступов одышки, ночных симптомов БА, интенсивность кашля, улучшилась аускультативная картина в легких (разница статистически достоверна для всех показателей).

В работе было проведено наблюдение за сроками купирования основных респираторных симптомов у детей с БА в сочетании с патологическим рефлюксом при разной тактике лечения (табл. 5).

Таблица 5

Сроки достижения ремиссии бронхиальной астмы у детей с патологическим ГЭР при различной тактике лечения (дни), *M±m*

Показатель	1 группа (n=94)	2 группа (n=47)
Кашель	6,4±1,14**	10,5±0,87
Хрипы в легких	3,63±0,50*	6,1±1,02
Нормализация спирограммы	10,1±1,31	12,9±0,87

Примечание: достоверность различий: * – p<0,05; ** – p<0,01

У детей с БА, получавших в составе комплексной терапии помимо базисного противовоспалительного лечения ингибиторы протонного насоса, клиническая симптоматика (кашель, хрипы в легких) исчезла на несколько дней раньше (разница статистически достоверна), нормализация показателей спирометрии отмечалась также раньше по сравнению с детьми, не получавшими антисекреторные препараты.

При динамическом наблюдении за показателями ФВД отмечено выраженное уменьшение бронхиальной обструкции у детей, получавших антирефлюксную терапию. Так, при-

рост ФЖЕЛ через 7 дней от начала лечения составил 9,1%, прирост $ОФВ_1$ 11,6%, прирост $МОС_{50}$ – 11,5%, прирост $МОС_{75}$ – 21,3% (разница между показателями ФВД до лечения и после статистически достоверна). У детей, получавших только традиционное лечение, прирост основных показателей спирографии был менее существенным, p>0,05). Через 14 дней терапии наблюдалось продолжение роста показателей ФВД у детей, принимавших антисекреторные препараты. У детей, не получавших антирефлюксного лечения, прирост показателей ФВД через 2 недели лечения оказался незначительным по сравнению с показателями недельной давности.

Наблюдение за детьми, получавшими комплексное лечение в условиях стационара, было продолжено и после их выписки из отделения. Через 6 месяцев после обследования был проведен анализ жалоб со стороны бронхолегочной системы с учетом частоты приступов одышки, обострений бронхиальной астмы в ночное время, частоты использования β_2-агонистов. У детей, получавших рабепразол в составе комплексной терапии в стационаре, по сравнению с детьми на стандартном лечении в катамнезе была меньше частота ночных симптомов БА (0,7±0,23 против 1,3±0,39, p>0,05), приступов одышки (0,5±0,34 против 2,0±0,48, p<0,05) и частота использования β_2-агонистов за 1 неделю (0,7±0,32 против 2,5±0,67, p<0,05). Результаты катамнестических наблюдений свидетельствуют о более легком течении БА при включении в состав комплексной терапии антисекреторных препаратов.

Выводы:

1. У детей с бронхиальной астмой и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью реже, чем в группе сравнения, выявляются отягощенная наследственность по астме, сенсибилизация к бытовым аллергенам по результатам скарификационных проб, что может свидетельствовать о смешанном генезе бронхиальной обструкции при сочетании данных заболеваний.

2. Интенсивность респираторных симптомов и нарушение бронхиальной проходимости более выражены у детей при сочетании бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни по сравнению с детьми без патологического рефлюкса.

3. В результате проведения комплексной терапии с включением антисекреторных препаратов у детей с бронхиальной астмой и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью происходит более быстрое купирование не только диспепсических, но и респираторных симптомов, более выражена динамика показателей функции внешнего дыхания по сравнению с детьми, получающими традиционное лечение.

THE COURSE OF BRONCHIAL ASTHMA WITH GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE IN CHILDREN

YU.S. APENCHENKO[*], S.F. GNUSAEV[*], D.N. ROZOV[**], I.I. IVANOVA[*], E.G. KOROLUK[*], V.L. KRASNENKOV[*], I.V. BEREZOVSKY[*]

[*]*Tver State Medical University, Sovetskaya st., 4, Tver, 170100, Russia*
[**]*Tver Children's Regional Clinical Hospital, nab. St. Razina, 23, Tver, 170100, Russia*

Abstract. The article is devoted to the problem of bronchial asthma and gastroesophageal reflux disease comorbidity in school-age children. The group of 141 school-year children with bronchial asthma was examined in order to estimate effect of pathological gastroesophageal reflux on bronchial asthma course and to determine the possibilities of acid suppression therapy. Respiratory function was assessed in all patients, patients with digestive complaints underwent upper gastrointestinal endoscopy and 24-hour pH-measurement in addition. The patients were divided into 2 groups: 1 – children with bronchial asthma and gastroesophageal reflux disease, 2 – children with bronchial asthma without pathological reflux. In children with bronchial asthma and gastroesophageal reflux disease it was more expressed respiratory symptoms and instrumental signs of bronchial obstruction but they less frequently had family history of asthma and household sensibilization, that indicates complex origin of bronchial obstruction in this case. Acid suppression in the complex therapy permitted to speed up the reduction both digestive and respiratory symptoms and improve the spirometry data.

Key words: bronchial asthma, gastroesophageal reflux disease, children, 24-hour pH monitoring.

Литература

1. Арамэ М.Г., Василос Л.В., Кожокару А.Н. Бронхоэзофагеальная гиперреактивность как общее звено в патогенезе бронхиальной астмы и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей // Вопросы детской диетологии. 2010. Т. 8, №2. С. 9–12.

2. Бейтуганова И.М., Чучалин А.Г. Рефлюкс-индуцированная бронхиальная астма // Русский медицинский Журнал. 1998. №6. С.1102–1108.

3. Каган Ю.М., Мизерниций Ю.Л., Хавкин А.И. Влияние гастроэзофагеальной рефлюксной болезни на течение бронхиальной астмы у детей // Аллергология. 2006. №1. С. 29–32.

4. Корняк Б.С., Кубышкин В.А., Чернова Т.Г., Азимов Р.Х. Бронхопульмональные и ларингеальные симптомы гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: диагностика и лечение // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2003. № 1. С. 33–38.

5. Кривошеев А.Б., Куимов А.Д., Хавин П.П., Борисова Т.В. Клинические особенности бронхиальной астмы, ассоциированной с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. 2007. №6. С. 12–18.

6. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». М., 2017. 160 с.

7. Палеев Н.П., Исаков В.А., Иванова О.В. Бронхиальная астма и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: случайна ли взаимосвязь?// Клиническая медицина. 2005. №1. С. 9–14.

8. Плешко Р.И., Огородова Л.М., Суходоло И.В., Геренг Е.А. Тяжелая бронхиальная астма и гастроэзофагеальный рефлюкс: морфофункциональные аспекты сопряженности // Пульмонология. 2006. №1. С. 60–63.

References

1. Arameh MG, Vasilos LV, Kozhokaru AN. Bronhoehzofageal'naya giperreaktivnost' kak obshchee zveno v patogeneze bronhial'noj astmy i gastroehzofageal'noj reflyuksnoj bolezni u detej [Bronchoesophageal hyperreactivity as a common link in the pathogenesis of bronchial asthma and gastroesophageal reflux disease in children]. Voprosy detskoj dietologii. 2010;8(2):9-12. Russian.

2. Bejtuganova IM, CHuchalin AG. Reflyuks-inducirovannaya bronhial'naya astma [Reflux-induced bronchial asthma]. Russkij medicinskij ZHurnal. 1998;6:1102-8. Russian.

3. Kagan YUM, Mizernicij YUL, Havkin AI. Vliyanie gastroehzofageal'noj reflyuksnoj bolezni na techenie bronhial'noj astmy u detej [Effect of gastroesophageal reflux disease on the course of bronchial asthma in children]. Allergologiya. 2006;1:29-32. Russian.

4. Kornyak BS, Kubyshkin V A, CHernova TG, Azimov RH. Bronhopul'monal'nye i laringeal'nye simptomy gastroehzofageal'noj reflyuksnoj bolezni: diagnostika i lechenie [Bronchopulmonary and laryngeal symptoms of gastroesophageal reflux disease: diagnosis and treatment]. EHksperimental'naya i klinicheskaya gastroehnterologiya. 2003;1:33-8. Russian.

5. Krivosheev AB, Kuimov AD, Havin PP, Borisova TV. Klinicheskie osobennosti bronhial'noj astmy, associirovannoj s gastroehzofageal'noj reflyuksnoj bolezn'yu [Clinical features of bronchial asthma associated with gastroesophageal reflux disease]. Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN. 2007;6:12-8. Rusisan.

6. Nacional'naya programma «Bronhial'naya astma u detej. Strategiya lecheniya i profilaktika» [National program " bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention»]. Moscow; 2017. Russian.

7. Paleev NP, Isakov VA, Ivanova OV. Bronhial'naya astma i gastroehzofageal'naya reflyuksnaya bolezn': sluchajna li vzaimosvyaz'? [National program " bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention»]. Klinicheskaya medicina. 2005;1:9-14. Russian.

8. Pleshko RI, Ogorodova LM, Suhodolo IV, Gereng EA. Tyazhelaya bronhial'naya astma i gastroehzofageal'nyj reflyuks: morfofunkcional'nye aspekty sopryazhennosti [Severe asthma and gastroesophageal reflux: a morphological and functional aspects of the interactions]. Pul'monologiya. 2006;1:60-3. Russian.

9. Симаненков В.И., Ильяшевич И.Г., Коновалова Н.В., Тихонов С.В. Механизмы коморбидности гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и бронхиальной астмы // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2011. №1. С. 124–128.

10. Терещенко С.Ю. Современные подходы к диагностике причин длительного кашля у детей // Тихоокеанский медицинский журнал. 2005. №3. С. 7–13.

11. Condino A.A., Sondheimer J., Pan Z. Evaluation of gastroesophageal reflux in pediatric patients with asthma using impedance-pH monitoring // J Pediatr. 2006. Vol. 149(2). P. 216–219.

12. De Meester T.R., Chandrasoma P. Esophageal disorders // Annu. Rev. Med. 1999. Vol. 50. P. 469–506.

13. Molle L.D., Goldani H.A., Fagondes S.C. Nocturnal reflux in children and adolescents with persistent asthma and gastroesophageal reflux // J Asthma. 2009. Vol. 46(4). P. 347–350.

9. Simanenkov VI, Il'yashevich IG, Konovalova NV, Tihonov SV. Mekhanizmy komorbidnosti gastroehzofageal'noj reflyuksnoj bolezni i bronhial'noj astmy [Mechanisms of comorbidity of gastroesophageal reflux disease and asthma]. Vestnik Rossijskoj Voenno-medicinskoj akademii. 2011;1:124-8. Russian.

10. Tereshchenko SYU. Sovremennye podhody k diagnostike prichin dlitel'nogo kashlya u detej [Modern approaches to the diagnosis of the causes of long-term cough in children]. Tihookeanskij medicinskij zhurnal. 2005;3:7-13. Russian.

11. Condino AA, Sondheimer J, Pan Z. Evaluation of gastroesophageal reflux in pediatric patients with asthma using impedance-pH monitoring. J Pediatr. 2006;149(2):216-9.

12. De Meester TR, Chandrasoma P. Esophageal disorders. Annu. Rev. Med. 1999;50:469-506.

13. Molle LD, Goldani HA, Fagondes SC. Nocturnal reflux in children and adolescents with persistent asthma and gastroesophageal reflux. J Asthma. 2009;46(4): 347-50.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 15–20
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 15–20

УДК: 616-006.6 – 618.11-007.6 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16158

КОМПЛЕКСНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОНКОМАРКЕРОВ *CA* 125, *HE* 4 И ИНДЕКСА *ROMA* КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ

Г.М. ЧИБИСОВА, С.В. ХАБАРОВ

Тульский государственный университет, медицинский институт,
ул. Болдина, д. 128, Тула, 300012, Россия

Аннотация. В статье представлены результаты ретроспективного аналитического исследования, проходившего на базе Тульского областного онкологического диспансера. При проведении работы у 1276 больных с различными новообразованиями яичников оценена чувствительность и специфичность опухолевых маркеров *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 и комплексного показателя *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* на ранних этапах выявления злокачественных опухолей придатков матки. По результатам послеоперационной патоморфологической диагностики у 64,9% женщин обнаружен рак яичников – основная группа с преобладанием серозной формы (69,5%) и у 35,1% – доброкачественные новообразования (контрольная группа). Пациентки первой группы были разделены на 4 подгруппы в зависимости от развития онкопроцесса. Проанализированы показатели чувствительности и специфичности у женщин с изучением крови только на один из вышеуказанных онкомаркеров и у пациенток с комплексным исследованием на *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 и показателя *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm*. Специфичность для *Cancer Antigen* 125 составила от 54 до 92%, которая зависела от выявленной стадии заболевания. Сочетанная чувствительность *Human Epididymis Protein* 4 и *Cancer Antigen* 125 равнялась 95% при специфичности – 74%. При комплексном исследовании *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 и показателя *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* чувствительность составила 96% при специфичности – 76%.

Ключевые слова: рак яичников, чувствительность, специфичность, *CA* 125, *HE* 4, индекс *ROMA*.

Актуальность. В настоящее время *рак яичников* (РЯ) находится на седьмом месте по частоте встречаемости и составляет от 4 до 6% среди злокачественных опухолей у женщин. В мире за последние десятилетия специалисты отмечают рост как заболеваемости, так и выявляемости при незначительном снижении смертности [1]. По данным Федерального ракового регистра России, РЯ в РФ ежегодно диагностируется у более, чем 12 тысяч женщин; показатель заболеваемости РЯ в 2016 г. составил 73,3 на 100 тысяч населения, также занимая седьмое место в общей структуре онкологической заболеваемости (5%) и четвертое – среди злокачественных опухолей женской репродуктивной сферы после новообразований молочной железы, тела и шейки матки [2]. Из-за запоздалой диагностики каждая пятая больная РЯ (22%) после установления диагноза не проживает и одного года, преимущественно за счет женщин с III и IV стадиями патологического процесса, доля которых в 2016 г. приближалась к 60%. Высокий уровень заболеваемости, сложности своевременной диагностики и неудовлетворительные исходы хирургического и медикаментозного лечения, в первую очередь распространенных стадий, обуславливают поиск новых адекватных подходов в диагностике РЯ на доклинических этапах развития онкопроцесса [4,15].

Обнаружение РЯ на ранних стадиях является основной задачей в решении проблемы эффективного лечения этого заболевания. Использование чувствительных серологических (сывороточных) *опухольассоциированных маркеров* (ОМ) на сегодня – важное направление на пути диагностики, динамического наблюдения адекватности лечения на всех этапах терапии и доклинического выявления рецидива опухоли для злокачественных новообразований ряда локализаций, включая и РЯ. Серологические ОМ, входящие в группу биомаркеров, – вещества, уровень которых возрастает в сыворотке крови и прочих биологических жидкостях пациентов с онкологическими процессами. Поэтому многие серологические ОМ широко применяются в практике врача-онколога, т.к. их присутствие и концентрация в определенной степени соотносятся с появлением и дальнейшей динамикой развития опухолевого процесса. На сегодня известен ряд ОМ, значимых при обследовании пациенток с РЯ. В эту группу

входят *Cancer Antigen* 125 (*CA* 125), *Human Epididymis Protein* 4 (*HE* 4), РЭА, остеопонтин, растворимые пептиды семейства мезотелина (*SMRP*), ингибин *B*, *VEGF*, продукты гена *MUC* 1, калликреины (*hK* 4, *hK* 6, *hK* 8, *hK* 10), АФП, тканевой полипептидный антиген, *M-CSF*, *PAI*-1, *IL*-6, *β*-ХГЧ, *IGFBP*-2 [5,6].

ОМ может адекватно соответствовать требованиям опухолеассоциированного, если его чувствительность превышает 50%, а специфичность составляет не менее 90% [10].

Чаще всего во врачебной практике применяются *CA* 125, *HE* 4 и комплексный показатель *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* (индекс *ROMA*), определяемый по результатам обследования на эти ОМ и менопаузального статуса пациентки.

Еще в 1988 году Международный противораковый союз учел разработки экспертных групп по применению ОМ в онкологической практике и рекомендовал маркером выбора для уточняющей диагностики и дальнейшего отслеживания пациенток с серозными формами РЯ онкофетальный протеин *CA* 125. Обоснованием использования *CA* 125 в скрининге явилось превышение уровня его нормальных показателей в среднем более, чем в 30 раз у женщин с РЯ [7, 8]. Однако, главным недостатком применения *CA* 125 как единственного ОМ в выявлении РЯ является низкая специфичность, резко понижающая его диагностическую значимость. Гиперэкспрессия *CA* 125 может быть как при иных локализациях злокачественного опухолевого процесса (лимфомы, неоплазии эндометрия и легких), так и у пациенток с доброкачественными новообразованиями женских репродуктивных органов (эндометриоз, лейомиомы, кисты яичников), различными экстрагенитальными заболеваниями (хронические поражения сердечно-сосудистой системы, печени, перитонит, плеврит), а также у беременных. При этом он малочувствителен даже при распространенных стадиях светлоклеточного, муцинозного и эндометриоидного РЯ. Кроме того, уровень *CA* 125 изменяется в различные фазы овариального цикла и, как правило, выше у пациенток в пременопаузе. Все это понижает специфичность теста при выявлении РЯ.

Для более точной диагностики злокачественных опухолей придатков матки предложен ингибитор протеаз *HE* 4, который, по результатам ряда исследований, показывает себя перспективным маркером РЯ с более высокой избирательностью и чувствительностью, чем *CA* 125, и показатель *ROMA*, определяемый по концентрации *CA* 125 и *HE* 4 с учетом менопаузального статуса [4,11,14]. В настоящее время специалистами проведен ряд исследований по изучению диагностической ценности определения концентрации *HE* 4 у больных РЯ. В литературе представлены данные о том, что по своей чувствительности он превосходит *CA* 125, особенно при заболевании, выявленном в молодом возрасте [17]. Однако обнаружен ряд факторов, оказывающих влияние на уровни данного ОМ и вызывающих его гиперэкспрессию: почечная недостаточность и курение. Рост сывороточной концентрации выявлен и при иной локализации опухолевого процесса (легочная аденокарцинома). Помимо этого, ряд исследователей своими работами продемонстрировал иммуноокрашивание лишь в единичных случаях неонкологических заболеваний придатков матки [13].

Результат мета-анализа 45 исследовательских работ, проведенных в различных странах в 2008-2013 годах, показал, что чувствительность и специфичность *HE* 4 на ранних стадиях РЯ были равны 65,0 и 85,0%, а на поздних – 88,0 и 86,0% соответственно [16].

Однако, количество исследований, посвященных значимости сочетанного применения *CA* 125, *HE* 4 и индекса *ROMA* в качестве инструмента раннего выявления пациенток с РЯ, пока недостаточно [5,12,14].

Цель исследования – изучить чувствительность и специфичность опухольассоциированных маркеров на этапе раннего выявления РЯ. Определить диагностическую значимость комплексной оценки уровня онкомаркеров *CA* 125, *HE* 4 и индекса *ROMA* как фактора прогноза развития РЯ.

Материалы и методы исследования. В ретроспективное аналитическое исследование было включено 1 276 больных с различными новообразованиями яичников, которым проведено обследование и хирургическое лечение на базе Тульского областного онкологического диспансера за период с 2013 по 2017 год.

Критерии включения: наличие у женщин опухолей придатков матки, присутствие результатов обследования на онкомаркеры *CA* 125, *HE* 4 и индекса *ROMA*, морфологическая верификация диагноза.

Возникшие в ходе работы этические вопросы и согласие пациенток не требовали раз-

решения, т.к. исследование было ретроспективным и все данные являлись анонимными.

Возраст пациенток составлял в среднем 52±3,7 года, с колебаниями от 25 до 79 лет. По результатам послеоперационной патоморфологической диагностики у 829 женщин (64,9%) выявлен РЯ. Данные пациентки составили основную группу исследования. Все пациентки этой группы нами были разделены с использованием системы TNM на 4 подгруппы в зависимости от развития онкопроцесса: I стадия (*n*=72), II стадия (*n*=119), III стадия (*n*=418) и IV стадия (*n*=220). Таким образом, большинство больных РЯ (77,0%) имело III–IV стадию заболевания. Данные патоморфологического исследования говорили о том, что эти опухоли, в большинстве своем, относились к серозным (*n*=576), составляя 69,5% от общего количества выявленных РЯ. Кроме того, были диагностированы эндометриоидные (*n*=87) – 10,5%, муцинозные (*n*=72) – 8,7% и светлоклеточные раки (*n*=25) – 3,0%. В 8,3% выявлены другие морфологические варианты РЯ (*n*=69). По стадиям развития онкопроцесса все гистологические формы РЯ распределялись достаточно равномерно.

У 218 женщин (17,1%) обнаружены различные доброкачественные новообразования, у 229 (18,0%) – функциональные кисты яичника. Пациентки с доброкачественными опухолями придатков матки были объединены в группу контроля.

Всем пациенткам в объеме комплексного предоперационного обследования проводилось определение исходного уровня сывороточных маркеров *CA*125 и *HE*4 иммунохимическим методом с *электрохемилюминесцентной детекцией* (*ECLIA*), выполнявшееся в различных лабораториях по месту жительства. Исследование на онкомаркеры осуществлялось до начала специфического лечения (операции или неоадьювантной химиотерапии в случае метастатического РЯ). Рекомендуемая мировой лабораторной практикой пороговая концентрация для *CA*125 равнялась 35 МЕ/мл; для HE4 она составляла у пациенток моложе 40 лет <70 Пмоль/л, у пациенток 40-50 лет – <100 Пмоль/л и у пациенток в постменопаузе – <120 Пмоль/л. *Дискриминационный уровень* (ДУ) *ROMA* у женщин в пременопаузе составлял 11,4%, в постменопаузе – 29,9%. Проводились расчет чувствительности и специфичности отдельно для каждого биомаркера и в совокупности (*CA*125 + *HE*4, *CA*125 + *HE*4 + индекс *ROMA*). Чувствительность отражала повышенный уровень экспрессии ОМ при наличии гистологически подтвержденного РЯ среди всех проведенных исследований и вычислялась по формуле: $Se=a/(a+c)$, где a – количество женщин основной группы с повышенной величиной исследуемого маркера; c – количество женщин этой группы с нормальным уровнем изучаемого онкомаркера. Специфичность показывала способность данного метода диагностики не выдавать ложноположительных результатов при отсутствии заболеваний и рассчитывалась по формуле: $Sp=d/(b+d)$, где d – количество женщин второй (контрольной) группы, у которых обсуждаемый онкомаркер в пределах нормальных показателей, b – количество женщин контрольной группы, с завышенным уровнем экспрессии изучаемого маркера.

В ходе исследования использовались различные способы верификации диагноза, включая клинические, биохимические, иммуноферментные, радиологические методы. После его установления с диагностической и лечебной целью пациенткам выполнялись оперативные вмешательства в различном объеме, что позволило подтвердить диагноз морфологически.

Статистически полученные данные обрабатывались с помощью программы «*STATISTICA 10.0*» фирмы *StatSoft Inc*.

Результаты и их обсуждение. По результатам исследования нами были произведены расчеты показателей чувствительности и специфичности применявшихся ОМ.

При определении концентрации *CA*125 в группе больных РЯ гиперэкспрессия наблюдалась у 625 женщин из 829. Чувствительность диагностического метода, полученная нами в исследовании, составила 75,4%. По опубликованным данным различных авторов, чувствительность теста для дифференциальной диагностики составляет 71-78%, а специфичность – 75-94% [3,10,11].

По результатам нашего исследования, чувствительность *CA*125 линейно возрастала соответственно распространению опухолевого процесса и достоверно были отличны при сравнении различных стадий РЯ, составив при I стадии 54,2%, при II – 67,2%, при III – 85,8% и при IV – 91,8%, что подтвердило результаты, приведенные в работах ряда исследователей о высокой чувствительности маркера лишь на поздних стадиях развития онкопроцесса (III–IV) [4,14,18].

Эта зависимость четко прослеживалась исключительно у больных с серозной цистаденомой. У пациенток с иными морфологическими формами РЯ такой зависимости мы не выявили.

В нашем исследовании повышенная концентрация *HE*4 выявлена у 735 из 829 пациенток с РЯ. Чувствительность метода в целом – независимо от стадии онкопроцесса – составила 88,7%. При анализе данных аналогичных работ [11,12,14] *HE*4 обладал максимальной чувствительностью и специфичностью по сравнению с другими ОМ. При этом изучение постадийных показателей продемонстрировало его умеренную стадиезависимость: чувствительность ОМ достоверно превышала *CA*125 на ранних стадиях развития злокачественного процесса (I-II стадия) и несущественно отличалась при запущенных стадиях РЯ: при I-II стадии процесса чувствительность *HE*4 составила 73,7%, при III – 75%, при IV – 86,4% [6].

В контрольной группе (доброкачественные новообразования придатков матки) полученный нами уровень специфичность маркера *CA*125 был значительно ниже аналогичного показателя у *HE*4 и составил 60,1 и 95,6% соответственно, что также нашло отражение в работах отечественных авторов [8,9].

При проведении анализов совместно на *CA*125 и *HE*4 нами получен показатель чувствительности сочетанного метода 95% при установленной специфичности 74%. Кроме того, работа продемонстрировала повышенную экспрессию *HE*4 у половины пациенток с РЯ, при сохраняющемся нормальном уровне *CA*125. Полученные нами данные свидетельствуют, что сочетанное определение двух ОМ (*CA*125 и *HE*4) повышает ценность теста для своевременного выявления РЯ и дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований малого таза.

Анализ данных нашего исследования по комплексной оценке уровней *CA*125, *HE*4 и индекса *ROMA* также продемонстрировал, что чувствительность метода в этом случае составила 96%, а специфичность – 76%. Площадь под *ROC* кривой для трех показателей в пременопаузе составила 0,95, 0,96 и 0,99. Это наиболее высокий уровень в проведенном нами исследовании.

Выводы. При осуществлении скрининговой диагностики РЯ традиционное использование лишь *CA*125 является малоэффективным: чувствительность данного биомаркера в обнаружении эпителиального РЯ на ранних стадиях крайне невысока, а специфичность – недостаточна. Анализ полученных нами результатов свидетельствует, что сочетанное взаимодополняющее определение уровней *CA*125, *HE*4 и индекса *ROMA* существенно повышает диагностическую значимость опухоль-ассоциированных тестов для своевременного доклинического выявления РЯ и разграничения доброкачественных и злокачественных новообразований придатков матки.

COMPLEX DETERMINATION OF ONCOPROTEIN *CA*125, *HE*4 AND *ROMA* INDEX AS A PROGNOSIS OF OVARIAN CANCER

G.M. CHIBISOVA, S.V. KHABAROV

Tula State University, Medical Institute, Boldin Str., 128, Tula, 300012, Russia

Abstract. The article presents the results of a retrospective analytical study conducted on the basis of the Tula Regional Cancer Clinic. In 1276 patients with various ovarian tumors, sensitivity and specificity of tumor markers *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 and *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* were evaluated in the early stages of detection of uterine appendages malignant tumors. According to the results of postoperative pathomorphological diagnosis, an ovarian cancer was found in 64.9% women – the main group with a predominance of serous form (69.5%) and 35.1% – benign tumors (control group). Patients of the first group were divided into 4 subgroups depending on the development of the cancer process. The sensitivity and specificity indices in women with blood study for only one of the above tumor markers and in patients with complex study for *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 and *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* were analyzed. Specificity for *Cancer Antigen* 125 ranged from 54 to 92%, which depended on the identified stage of the disease. The combined sensitivity of *Human Epididymis Protein* 4 and *Cancer Antigen* 125 was equal to 95% with a specificity of 74%. In a complex study of *Cancer Antigen* 125, *Human Epididymis Protein* 4 and *Risk of Ovarian Malignancy Algorithm* sensitivity was 96% with specificity 76%.

Key words: ovarian cancer (OC), sensitivity, specificity, *CA*125, *HE*4, *ROMA* index.

Литература

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы // Онкогинекология. 2012. № 1. С. 18–22.

2. Антонеева И.И., Генинг Т.П., Абакумова Т.В. Алгоритм диагностики прогрессирующих форм рака яичников // Медицинский альманах. 2012. № 4. С. 29–31.

3. Васильев А.Н., Красильников С.Э., Войцицкий В.Е., Герасимов А.В., Кулиджанян А.П., Бабаянц Е.В., Сисакян В.Г., Крылышкин М.И., Афанасьева Н.А., Мансурова А.С. Онкомаркеры *CA*125, *HE*4 как предикторные факторы прогноза у больных с пограничными опухолями яичников // Сибирский онкологический журнал. 2015. № 4. С. 39–44.

4. Герфанова Е.В., Ашрафян Л.А., Антонова И.Б., Алешикова О.И., Ивашина С.В. Скрининг рака яичников: реальность и перспективы. Обзор литературы // Гинекология. 2015. № 1. С. 69–75.

5. Жордания К.И., Хохлова С.В. Ранний рак яичников. Наш взгляд на проблему // Онкогинекология. 2012. № 1. С. 51–58.

6. Клинико-лабораторная концепция исследования серологических опухолеассоциированных маркеров и некоторых гормонов у онкологических больных. М. : «МНИОИ им. П.А. Герцена» – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. 10 с.

7. Маршутина Н.В., Солохина М.П., Алентов И.И., Сергеева Н.С. Клиническая значимость биологических маркеров при раке яичников, раке предстательной железы, колоректальном раке // Исследования и практика в медицине. 2016. Т. 3, № 1. С. 46–57.

8. Немальцова Е.В., Сухина Е.Н., Сухин В.С. Диагностическая значимость опухолевого маркера *HE*-4 в стадировании рака яичников // Наука и Здравоохранение. 2017. № 6. С. 28–42.

9. Сергеева Н.С. Маршутина Н.В., Алентов И.И., Корнеева И.А., Новикова Е.Г. Серологические опухолеассоциированные маркеры *CA*125 и *HE*4 у больных раком яичников // Вопросы онкологии. 2013. Т. 59, № 2. С. 12–21.

10. Сергеева Н.С., Маршутина Н.В. Опухолеассоциированные маркеры в скрининговых программах, направленных на активное выявление рака яичников: реальность, проблемы и перспективы //

References

1. Axel EM. Statistika zlokachestvennykh novoobrazovanij zhenskoj polovoj sfery [Statistics of malignant neoplasms of the female sexual sphere]. Onkoginekologiya. 2012;1:18-22. Russian.

2. Antoneeva II, Gening TP, Abakumova TV. Algoritm diagnostiki progressiruyushhikh form raka yaichnikov [Algorithm for the diagnosis of progressive forms of ovarian cancer]. Meditsinskij al'manakh. 2012;4:29-31. Russian.

3. Vasil'ev AN, Krasil'nikov SE, Vojtsitskij VE, Gerasimov AV, Kulidzhanyan AP, Babayants EV, Sisakyan VG, Krylyshkin MI, Afanas'eva NA, Mansurova AS. Onkomarkery *CA*125, *HE*4 kak prediktornye faktory prognoza u bol'nykh s pogranichnymi opukholyami yaichnikov [Oncomarkers *CA*125, *HE*4 as predictor prognostic factors in patients with borderline ovarian tumors]. Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2015;4:39-44. Russian.

4. Gerfanova EV, Ashrafyan LA, Antonova IB, Aleshikova OI, Ivashina SV. Skrining raka yaichnikov: real'nost' i perspektivy. Obzor literatury [Ovarian cancer screening: reality and prospects. Literature review]. Ginekologiya. 2015;1:69-75. Russian.

5. Jordania KI, Khokhlova SV. Rannij rak yaichnikov. Nash vzglyad na problemu [Early ovarian cancer. Our view of the problem]. Onkoginekologiya. 2012;1:51-8. Russian.

6. Kliniko-laboratornaya kontseptsiya issledovaniya serologicheskikh opukholeassotsiirovannykh markerov i nekotorykh gormonov u onkologicheskikh bol'nykh [Clinical and laboratory concept of the study of serological tumor-associated markers and some hormones in cancer patients]. Moscow research Institute named after PA Herzen-branch of the Ministry of health OF Russia; 2016. Russian.

7. Marshutina NV, Solokhina MP, Alentov II, Sergeeva NS. Klinicheskaya znachimost' biologicheskikh markerov pri rake yaichnikov, rake predstatel'noj zhelezy, kolorektal'nom rake [Clinical significance of biological markers in ovarian cancer, prostate cancer, colorectal cancer]. Issledovaniya i praktika v meditsine. 2016;3(1):46-57. Russian.

8. Nimalawa EV, Maltsev EV, Sukhina EN. Diagnosticheskaya znachimost' opukholevogo markera NE-4 v stadirovanii raka yaichnikov [Diagnostic value of tumor marker HE-4 in the staging of ovarian cancer]. Nauka i Zdravookhranenie. 2017;6:28-42. Russian.

9. Sergeeva NS, Marshutina NV, Alentov II, Korneeva IA, Novikova EG. Serologicheskie opukholeassotsiirovannye markery *CA*125 i *HE*4 u bol'nykh rakom yaichnikov [Serological tumor-associated markers of *CA*125 and *HE*4 in ovarian cancer patients]. Voprosy onkologii. 2013;59(2):12-21. Russian.

10. Sergeeva NS, Marshutina NV. Opukholeassotsiirovannye markery v skriningovykh programmakh, napravlennykh na aktivnoe vyyavlenie raka yaichnikov: real'nost', problemy i perspektivy [Tumor-

Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 2. С. 110–119.

11. Advances in Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. SA Farghaly (Ed.). New York.: Springer Science & Business Media, 2014. 285 p.

12. Buys S.S., Partridge E., Black A., Johnson C.C., Lamerato L., Isaacs C., Reding D.J., Greenlee R.T., Yokochi L.A., Kessel B., Crawford E.D., Church T.R., Andriole G.L., Weissfeld J.L., Fouad M.N., Chia D., O'Brien B., Ragard L.R., Clapp J.D., Rathmel J.M. Effect of screening on ovarian cancer mortality: The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) cancer screening randomized controlled trial // JAMA. 2011. Vol. 35, N 22. P. 2295–2303.

13. Hertlein L., Stieber P., Kirschenhofer A., Fürst S., Mayr D., Hofmann K., Krocker K., Nagel D., Lenhard M., Burges A. Human epididymis protein4 (HE4) inbenign and malignant diseases // Clin Chem Lab Med. 2012. Vol. 50, N 12. P. 2181–2188.

14. Jacobs I.J., Menon U., Ryan A., Gentry-Maharaj A., Burnell M., Kalsi J.K., Amso N.N., Apostolidou S., Benjamin E., Cruickshank D., Crump D.N., Davies S.K., Dawnay A., Dobbs S., Fletcher G., Ford J., Godfrey K., Gunu R., Habib M., Hallett R., Herod J., Jenkins H., Karpinskyj C., Leeson S., Lewis S. J., Liston W.R., Lopes A., Mould T., Murdoch J., Oram D., Rabideau D.J., Reynolds K., Scott I., Seif M.W., Sharma A., Singh N., Taylor J., Warburton F., Widschwendter M., Williamson K., Woolas R., Fallowfield L., McGuire A.J., Campbell S., Parmar M., Skates S.J. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial // Lancet. 2016. Vol. 387(10022). P. 945–956.

15. Kobayashi E., Ueda Y., Matsuzaki S., Yokoyama T., Kimura T., Yoshino K., Fujita M., Kimura T., Enomoto T. Biomarkers for screening, diagnosis, and monitoring of ovarian cancer // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012. Vol. 21, N 11. P. 1902–1912.

16. Macedo A. C, da Rosa M. I, Lumertz S., Medeiros L.R. Accuracy of serum human epididymis protein 4 in ovarian cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis // Int J Gynecol Cancer. 2014. Vol. 24, N 7. P. 1222–1231.

17. Molina R., Escudero J. M., Augé J. M., Filella X., Foj L., Torné A., Lejarcegui J., Pahisa J. HE4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with CA 125 and ROMA algorithm in patients with gynaecological diseases // Tumour Biol. 2011. Vol. 32, N 6. P. 1087–1095.

18. Sölétormos G., Duffy M.J., Hassan S.O.A., Verheijen R.H.M., Tholander B., Bast R.C., Gaarenstroom K.N., Sturgeon C.M., Bonfrer J.M., Petersen P.H., Troonen H., Torre G.C., Kulpa J.K., Tuxen M.K., Molina R. Clinical use of cancer biomarkers in epithelial ovarian cancer: updated guidelines from the European group on tumor markers (EGTM) // Int J Gynecol Cancer. 2016. Vol. 26, N 1. P. 43–51.

Associated markers in screening programs aimed at active detection of ovarian cancer: reality, problems and prospects]. Prakticheskaya onkologiya. 2010;11(2):110-9. Russian.

11. Advances in Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. SA Farghaly (Ed.) New York. Springer Science & Business Media; 2014.

12. Buys SS, Partridge E, Black A, Johnson CC, Lamerato L, Isaacs C, Reding DJ, Greenlee RT, Yokochi LA, Kessel B, Crawford ED, Church TR, Andriole GL, Weissfeld JL, Fouad MN, Chia D, O'Brien B, Ragard LR, Clapp JD, Rathmel JM. Effect of screening on ovarian cancer mortality: The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) cancer screening randomized controlled trial. JAMA. 2011;35(22):2295-303.

13. Hertlein L, Stieber P, Kirschenhofer A, Fürst S, Mayr D, Hofmann K, Krocker K, Nagel D, Lenhard M, Burges A. Human epididymis protein4 (HE4) inbenign and malignant diseases. Clin Chem Lab Med. 2012;50(12):2181-8.

14. Jacobs IJ, Menon U, Ryan A, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Kalsi JK, Amso NN, Apostolidou S, Benjamin E, Cruickshank D, Crump DN, Davies SK, Dawnay A, Dobbs S, Fletcher G, Ford J, Godfrey K, Gunu R, Habib M, Hallett R, Herod J, Jenkins H, Karpinskyj C, Leeson S, Lewis SJ, Liston WR, Lopes A, Mould T, Murdoch J, Oram D, Rabideau DJ, Reynolds K, Scott I, Seif MW, Sharma A, Singh N, Taylor J, Warburton F, Widschwendter M, Williamson K, Woolas R, Fallowfield L, McGuire AJ, Campbell S, Parmar M, Skates SJ. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. Lancet. 2016;387(10022):945-56.

15. Kobayashi E, Ueda Y, Matsuzaki S, Yokoyama T, Kimura T, Yoshino K, Fujita M, Kimura T, Enomoto T. Biomarkers for screening, diagnosis, and monitoring of ovarian cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012;21(11):1902-12.

16. Macedo AC, da Rosa MI, Lumertz S, Medeiros LR. Accuracy of serum human epididymis protein4 in ovarian cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis. Int J Gynecol Cancer. 2014;24(7):1222-31.

17. Molina R, Escudero JM, Augé JM, Filella X, Foj L, Torné A, Lejarcegui J, Pahisa J. *HE*4 a novel tumour marker for ovarian cancer: comparison with *CA*125 and *ROMA* algorithm in patients with gynaecological diseases. Tumour Biol. 2011;32(6):1087-95.

18. Sölétormos G, Duffy MJ, Hassan SOA, Verheijen RHM, Tholander B, Bast RC, Gaarenstroom KN, Sturgeon CM, Bonfrer JM, Petersen PH, Troonen H, Torre GC, Kulpa JK, Tuxen MK, Molina R. Clinical use of cancer biomarkers in epithelial ovarian cancer: updated guidelines from the European group on tumor markers (EGTM). Int J Gynecol Cancer. 2016;26(1):43-51.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 21–27
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 21–27

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОБЩЕГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ», посвященная 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

УДК: 618.2–018+611–013.7/.8 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16141

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ТКАНИ И СТАТУСА ВИТАМИНА *D* У ЖЕНЩИН С НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТЬЮ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Е.В. ЕНЬКОВА, Д.А. АТЯКШИН, О.В. ГАЙСКАЯ, О.В. ХОПЕРСКАЯ

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия

Аннотация. Неразвивающаяся беременность является важной проблемой современного акушерства. Несмотря на развитие медицины и большое количество накопленных знаний в данной области, частота встречаемости замершей беременности остается высокой и не имеет тенденции к снижению, что диктует необходимость поиска новых патогенетических механизмов развития и мер профилактики заболевания. Целью исследования являлось выявить влияние гиповитаминоза *D* на риск возникновения неразвивающейся беременности, оценить состояние популяции тучных клеток при физиологической гестации и замершей беременности, показать взаимосвязь между степенью насыщенности организма витамином *D* и количеством тучных клеток, а также степенью экспрессии ими специфичных протеаз. В проведенном исследовании установлена высокая частота формирования гиповитаминоза *D* в основной группе, а также увеличение количества, секреторной активности тучных клеток и изменение экспрессии специфичных протеаз при неразвивающейся беременности. Показано возрастание удельного веса химаза-позитивных тучных клеток в структуре их популяции при патологическом течении беременности. Выявлена обратная зависимость между количеством и секреторной активностью тучных клеток и концентрацией витамина D в плазме. Полученные сведения позволяют разработать новые схемы профилактики неразвивающейся беременности, включая коррекцию витаминодефицита и возможное использование стабилизаторов мембран тучных клеток на предгравидарном этапе.

Ключевые слова: витамин *D*, тучные клетки, неразвивающаяся беременность.

Введение. Профилактика репродуктивных потерь является первостепенным вопросом современного акушерства. Несмотря на значимые доклинические потери, 20% диагностированных желанных беременностей заканчивается неблагополучно, из них 9% – в результате *неразвивающейся беременности* (НБ) [2]. В 80% случаев прерывание гестации происходит в первом триместре, когда доля несостоявшегося выкидыша варьирует в пределах 45-88,6% [3]. Частота встречаемости НБ не имеет тенденции к снижению, что диктует необходимость поиска новых патогенетических механизмов развития и мер профилактики заболевания. Под НБ понимают гибель эмбриона или плода в сочетании с ареактивностью и инертностью миометрия и нарушениями в системе гемостаза [2,9]. Заболевание является полиэтиологичным и многофакторным. Так к НБ могут приводить анатомические и функциональные изменения миометрия и эндометрия, генетические и хромосомные аномалии эмбриона, нарушения работы системы гемостаза, эндокринные, инфекционные и аутоиммунные заболевания. К факторам риска возникновения заболевания относят старший и поздний репродуктивный возраст родителей, соматические заболевания, вредные привычки, стресс [4-6,8,10,17].

В последние годы широко обсуждают роль дефицита витамина *D* в генезе бесплодия и невынашивания. Основной функцией жирорастворимого витамина является поддержание гомеостаза кальция и стимуляция процессов минерализации костной ткани. Дефицит 25(*OH*)*D* заслуженно считается фактором риска НБ: его концентрация в сыворотке беременной ниже 50 нмоль/л сопряжена с более чем двукратным увеличением частоты прерывания беременности. Витамин *D* участвует в гестационном процессе, регулируя активность генов, ответствен-

ных за инвазию трофобласта, модулирует иммунный ответ по *Th*2 типу, снижая выработку провоспалительных цитокинов, и стимулирует ангиогенез за счет активации синтеза *сосудисто-эндотелиального фактора роста* (СЭФР) [7,13,16]. Обсуждается его роль в формировании механизмов ареактивности миометрия.

В литературе накоплены данные, свидетельствующие об участии *тучных клеток* (ТК) в формировании и поддержании беременности. ТК – лейкоциты, содержащие в цитоплазме около 500000 гранул с широким набором биологически активных веществ [18]. В зависимости от вида пептидазы, выделяют триптаза-позитивные, химаза-позитивные и ТК с одновременной экспрессией химазы и триптазы. Помимо пептидаз в гранулах содержатся гистамин, гепарин, матриксные металлопротеиназы и проангиогенные факторы, включая СЭФР, необходимые для децидуализации эндометрия и имплантации плодного яйца [15]. Недаром количество ТК возрастает в фазу секреции и в первом триместре беременности; они расположены преимущественно вблизи развивающегося эмбриона [14,19]. ТК способны как увеличивать, так и уменьшать сократительную активность миометрия. Известны данные об ингибирующем влиянии витамина *D* на дегрануляцию ТК [20].

Материалы и методы исследования. Методом случайной выборки в исследование были включены и обследованы 80 женщин со сроком до 8 недель беременности: 1-я группа (группа контроля) – беременные женщины (*n*=40), поступившие для прерывания беременности (аборт). 2-я группа – беременные с угрожающим выкидышем, чья беременность, несмотря на проводимое лечение, остановилась в развитии (*n*=40).

Критериями исключения из исследования стали заболевания внутренних органов в стадии декомпенсации, вспомогательные репродуктивные технологии, беременные с признаками эндометрита, подтвержденного иммуногистохимическим исследованием *CD* 138, хромосомная патология абортуса.

Для установления уровня витамина *D* в плазме крови беременных использовали иммуноферментный тест для количественного определения 25-OH витамина *D* (25-OH *Vitamin D ELISA*).

Для морфологического анализа неинвазивным методом (медикаментозное прерывание беременности) была взята децидуальная ткань.

Для идентификации ТК проводили традиционное метахроматическое окрашивание толуидиновым синим [1]. С целью анализа состояния популяции ТК в каждом поле зрения при использовании объектива ×20 определяли число ТК и соотношение недегранулированных и дегранулированных форм. После окрашивания по Романовскому–Гимзе оценивали соотношение гранулоцитов в ткани [11]. Для идентификации триптазы и химазы ТК использовался иммуногистохимический анализ [12]. Идентификация триптазы осуществлялась с помощью маркирования кроличьими моноклональными антителами к триптазе ТК (*Anti-Mast Cell Tryptase antibody, AbCam*, #*ab*151757, разведение 1:1000), химазу идентифицировали мышиными моноклональными антителами к химазе ТК (Anti-*Mast Cell Chymase antibody, AbCam, #ab*2377), разведение 1:500 согласно стандартному протоколу [12].

Для множественного иммуномаркирования использовали аналогичные первичные антитела для идентификации триптазы и химазы ТК. В качестве вторичных антител использовали антитела *Goat Anti-Rabbit Ig H&L*, конъюгированные с Alexa Fluor-488 (#*ab*150077) (разведение 1:500) для идентификации триптазы, и *Goat-Anti-Mouse Ig* H&L, конъюгированные с *Cy*3 (#*ab*97035) для визуализации химазы (разведение 1:500) с помощью соответствующих флуоресцентных фильтров. Ядра докрашивали неинтеркалирующим красителем *DAPI* (5 мкг/мл *PBS,* 15 сек), после чего срезы заключались в монтажную среду *Vectashield* (*Vector Laboratories*, *Burlingame*, США).

Окрашенные срезы изучали на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований *ZEISS Axio Imager.A2* (*Carl Zeiss Microscopy*, Германия). Изображения документировали с помощью камеры *Camera Axiocam* 506 *color*, либо монохромной камерой для флуоресцентной микроскопии *Camera Axiocam* 503 *mono* и подвергали анализу на программном обеспечении *ZEN 2.3* (*blue edition, Carl Zeiss, Germany*). Количество ТК в эндометрии определяли в поле зрения размером 700×500 мкм при использовании объектива ×20, при этом в каждом срезе для получения достаточного объема данных анализировали не менее 20 полей зрения. Протеазный профиль определяли в процентах по соотношению в поле зрения триптаза-позитивных, химаза-позитивных ТК и ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы. Полученный информационный массив об-

рабатывали статистически с помощью программного обеспечения *ZEN* 2.3 (*Carl Zeiss*). Достоверность различий в случае нормального распределения данных определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Установленные нами результаты демонстрируют высокую частоту встречаемости гиповитаминоза *D* у беременных женщин. В 92% случаев *D*-гиповитаминоз был выявлен в группе женщин с НБ, в 37% – в группе контроля. У женщин 2-й группы уровень витамина *D* в плазме крови составил 17.17±1.30 нг/мл, у женщин группы контроля – 30.90±1.26 нг/мл ($p<0.05$). Полученные результаты свидетельствуют о необходимости исследования этого показателя, важности профилактики недостаточности и дефицита витамина *D*.

В ходе исследования установлена функциональная активность и количество ТК в децидуальной ткани при НБ и при физиологически протекающей беременности (табл. 1).

Таблица 1

Содержание тучных клеток в эндометрии (по результатам метахроматического окрашивания, в поле зрения)

Группа пациентов	Количество ТК
1-я группа	0.80±0.20
2-я группа	3.40±0.30*

Примечание: * – $p<0.05$ по сравнению с контролем

Таблица 2

Содержание тучных клеток в эндометрии (по результатам иммуногистохимического окрашивания, в поле зрения)

Группа пациентов	Триптаза-позитивные	Химаза-позитивные
1-я группа	2.30±0.40	0.40±0.10
2-я группа	9.80±0.90*	3.80±0.40*

Примечание: * – $p<0.05$ по сравнению с контролем

Таблица 3

Протеазный профиль тучных клеток в эндометрии (в поле зрения, %). Множественное иммуномаркирование на триптазу и химазу

Группа пациентов	Триптаза	Химаза	Триптаза + химаза
1-я группа	85.20±2.80	6.20±0.50	8.60±0.20
2-я группа	48.90±3.80*	18.60±1.50*	32.50± 2.80*

Примечание: * – $p<0.05$ по сравнению с контролем

У женщин с НБ наблюдалось большее количество триптаза- и химаза-позитивных ТК в децидуальной ткани, а также их активная секреторная деятельность (табл. 2-4).

Таблица 4

Интенсивность секреции протеаз тучными клетками (по результатам иммуногистохимического окрашивания, в поле зрения)

Тип тучных клеток	Секреторный статус	1-я группа	2-я группа
Триптаза-позитивные	Недегранулированные	75.60±6.80	47.30±4.10*
	Дегранулированные	24.40±3.20	52.70±4.20*
Химаза-позитивные	Недегранулированные	83.40±7.70	63.60±5.10*
	Дегранулированные	16.60±1.40	36.40±2.80*

Примечание: * – $p<0.05$ по сравнению с контролем

В нашем исследовании впервые удалось установить наличие триптаза-позитивных, химаза-позитивных и триптаза / химаза-позитивных ТК в децидуализированном эндометрии в эмбриональном периоде беременности. Установлено, что триптаза / химаза-позитивные ТК в группе женщин с НБ встречались в 3.7 раз чаще, по сравнению с контролем ($p<0.05$) (табл. 3).

В строме эндометрия определяется незначительное количество триптаза-позитивных ТК.

Очевидна лучшая выявляемость ТК при метахроматическом окрашивании, что, возможно, обусловлено большим количеством секрета в цитоплазме, содержание которого заметно возрастало, а также возрастанием уровня сульфатированности гликозаминогликанов, входящих в состав секреторных гранул, в том числе, возможно, гепарина.

В децидуализированном эндометрии возрастало число эозинофилов, часть которых находилась вблизи сосудов микроциркуляторного русла эндометрия (рис. 4), что указывает на активизацию эозинофилов и их участие в патогенезе НБ, несмотря на неравномерность распределения в эндометрии.

Дегрануляция ТК приводит к высокому содержанию триптаза- и химаза-позитивных гранул в строме эндометрия, где реализуются все эффекты протеаз: провоспалительный, инициация миммунологических реакций, спо-

собность к ремоделированию архитектоники децидуальной ткани и спиральных артерий эндометрия. В результате массивной экструзии большое количество активных протеаз поступает в межклеточное пространство и оказывает клеточно-тканевые эффекты на структуры микроокружения.

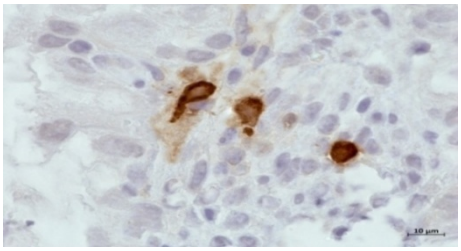


Рис. 1. Высокое содержание триптаза-позитивных тучных клеток в децидуальной ткани у женщин 2-й группы. Секреция триптазы

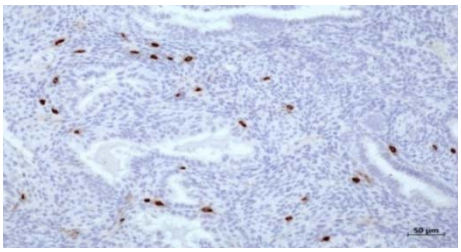


Рис. 2. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью. В группе женщин с замершей беременностью содержание триптаза-позитивных тучных клеток в 4.2 раза превышает контроль ($p<0.05$), количество тучных клеток с признаками дегрануляции в 2.1 раз выше, по сравнению с контролем ($p<0.05$)

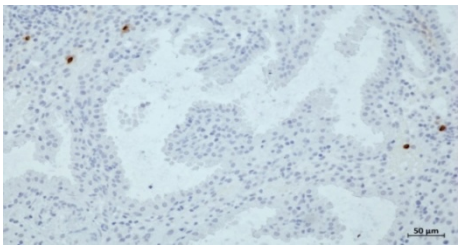


Рис. 3. Децидуальная ткань женщины группы контроля

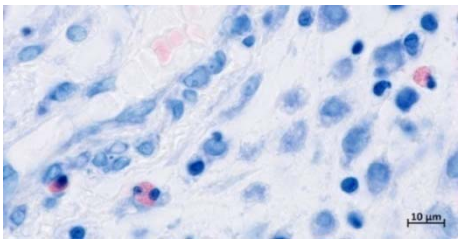


Рис. 4. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью. Определяется большое количество эозинофильных гранулоцитов

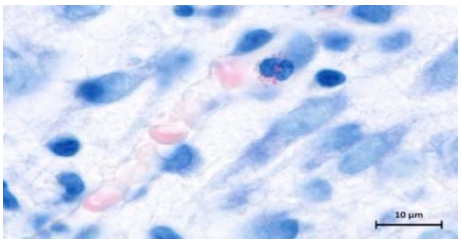


Рис. 5. Децидуальная ткань женщины группы контроля. Определяется прилежание эозинофильного гранулоцита к стенке капилляра

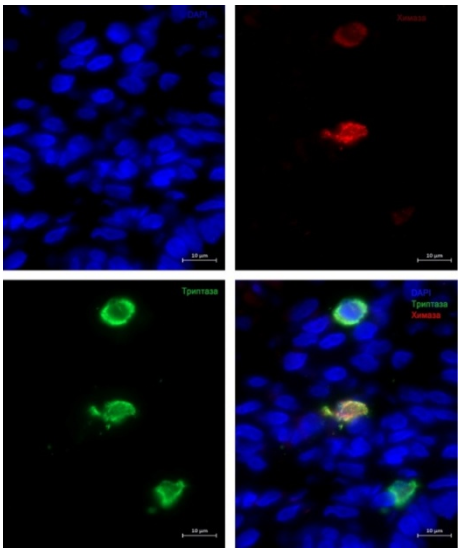


Рис. 6. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью. Множественное иммуномаркирование триптазы и химазы тучных клеток. Наблюдаются экспрессия химазы и триптазы в тучных клетках

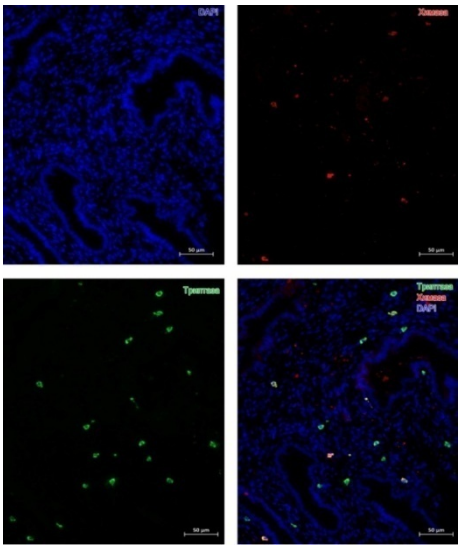


Рис. 7. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью

При исследовании экспрессии протеаз – триптазы и химазы были обнаружены также существенные изменения состояния популя-

ции ТК децидуализированного эндометрия. В группе женщин с замершей беременностью усиливалась экспрессия химазы в ТК эндометрия. При этом, несмотря на общее увеличение количества триптаза-содержащих ТК, результаты множественного иммуномаркирования свидетельствовали о снижении доли ТК с экспрессией триптазы. Установлено достоверное возрастание ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы, а также увеличивалась доля ТК, экспрессирующих исключительно химазу (табл. 3, рис. 7). Часто химаза-позитивные гранулы локализовались в строме эндометрия вне цитоплазмы ТК, представляя собой автономный запас фермента.

Полученные результаты подтверждают, что триптаза и химаза являются информативными диагностическими маркерами и перспективной мишенью для фармакотерапии, поскольку они являются ключевыми объектами при исследовании роли ТК.

Заключение. При НБ установлено достоверное увеличение количества триптаза-позитивных (в 4.2 раза), химаза-позитивных (в 9.5 раза) и триптаза / химаза-позитивных ТК (в 3,7 раза) в децидуальной ткани, и степени их дегрануляции (в 2.1 раз), по сравнению с группой контроля, а также большая распространенность гиповитаминоза *D*. Показана обратная зависимость между концентрацией витамина D плазмы и количеством и степенью дегрануляции ТК. Учитывая возрастание доли химаза-позитивных ТК в образцах децидуальной ткани пациенток основной группы, можно констатировать влияние гиповитаминоза *D* на экспрессию протеаз ТК, и важную роль химазы в патогенетических механизмах формирования НБ.

EVALUATION OF THE POPULATION OF THE MAST CELLS OF THE DECIDUAL TISSUE AND THE STATUS OF VITAMIN D IN WOMEN WITH UNDEVELOPED PREGNANCY IN THE EMBRYONIC PERIOD

E.V. ENKOVA, D.A. ATIAKSHIN, O. V. GAISKAYA, O.V. HOPERSKAYA

Voronezh State N.N. Burdenko Medical University, 10 Studencheskaya str., Voronezh, 394036, Russia

Abstract. An undeveloped pregnancy is an important problem of modern obstetrics. Despite the development of medicine and knowledge in this area, the incidence of undeveloped pregnancy remains high and does not decrease. It makes necessary to search a new pathogenetic mechanisms of development and prevention of this disease. The research purpose was to identify the effect of vitamin D hypovitaminosis on the risk of developing an undeveloped pregnancy and to assess the population composition and degree of activation of mast cells in physiological gestation, to show the relationship between vitamin D status and fat cell count and their expression of specific proteases. We have established a high incidence of hypovitaminosis 25(OH) D in the main group, as well as an increase in the number and degree of activation of mast cells in an undeveloped pregnancy. It is shown the increase in the specific weight of chymase – positive mast cells and changes in the expression of specific proteases in the pathological course of pregnancy. It was revealed the inverse relationship between the activity and the amount of mast cells and the concentration of vitamin D of plasma. The received information allow to develop new ways to prevent an undeveloped pregnancy, including correction of the deficiency D and the possible use of the stabilizers of membranes of mast cells at the pre-gravitational stage.

Key words: undeveloped pregnancy, mast cells, vitamin D.

Литература

1. Атякшин Д.А., Бухвалов И.Б., Тиманн М. Гистохимии ферментов. Воронеж: Научная книга, 2016. 120 с.

2. Беременность ранних сроков. От прегравидарной подготовки к здоровой гестации ; под. ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2018. 800 с.

References

1. Atyakshin DA, Buhvalov IB, Timann M. Gistohimii fermentov [Enzyme histochemistry]. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2016. Russian.

2. Beremennost' rannih srokov. Ot pregravidarnoj podgotovki k zdorovoj gestacii; pod. red. V.E. Radzinskogo, A.A. Orazmuradova. 3-e izd., pererab. i dop [Early pregnancy. From pregravid preparation for healthy gestation; under. ed. by V. E. Radzinsky, A. A.

Orazmuradov. 3rd ed., re-developed and additional]. Moscow: Redakciya zhurnala StatusPraesens; 2018. Russian.

3. Бощанова Г.С., Зайдиева З.С., Магометханова Д.М., Заякин В.А., Назарова Е.А. Невынашивание беременности: общий взгляд на проблему // Медицинский совет. 2012. № 3. С. 67–71.

3. Boshchanova GS, Zajdieva ZS, Magomethanova DM, Zayakin VA, Nazarova EA. Nevynashivanie beremennosti: obshchij vzglyad na problemu [Miscarriage: a General view of the problem]. Medi-cinskij sovet. 2012; 3:67-71. Russian.

4. Гинекология: национальное руководство; под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского, И.Б. Манухина. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 1008 с.

4. Ginekologiya: nacional'noe rukovodstvo ; pod red. G.M. Savel'evoj, G.T. Suhih, V.N. Serova, V.E. Radzinskogo, I.B. Manuhina. 2-e izd., pererab. i dop. [Gynecology: national leadership ; ed. by G. M. Savelieva, G. T. Sukhikh, V. N. Serov, V. E. Radzinsky, E.B. Manukhina. 2nd ed., re-developed and additional]. Moscow: GEHOTAR-Media; 2017. Russain.

5. Зинченко Ю.П., Хадарцев А.А., Филатова О.Е. Введение в биофизику гомеостатических систем (complexity) // Сложность. Разум. Постнеклассика. 2016. № 3. С. 6–15.

5. Zinchenko YuP, Khadartsev AA, Filatova OE. Vvedenie v biofiziku gomeostaticheskikh sistem (complexity) [Introduction to biophysics of homeostatic systems (complexity)]. Slozhnost'. Razum. Postneklassika. 2016;3:6-15. DOI: 10.12737/22107. Russian.

6. Леонов Б.И., Хадарцев А.А., Гонтарев С.Н., Борисова О.Н., Веневцева Ю.Л., Агасаров Л.Г., Истомина И.С., Каменев Л.И., Варфоломеев М.А., Егиазарова И.П., Лысый В.М., Федоров С.Ю., Хижняк Л.Н., Щербаков Д.В., Коржук Н.Л., Хадарцев В.А. Восстановительная медицина: Монография / Под ред. А.А. Хадарцева, С.Н. Гонтарева, Л.Г. Агасарова. Тула: Изд-во ТулГУ – Белгород: ЗАО «Белгородская областная типография», 2011. Т. IV. 204 с.

6. Leonov BI, Hadarcev AA, Gontarev SN, Borisova ON, Venevceva YUL, Agasarov LG, Istomina IS, Kamenev LI, Varfolomeev MA, Egiazarova IP, Lysyj VM, Fedorov SYU, Hizhnyak LN, SHCHerbakov DV, Korzhuk NL, Hadarcev VA. Vosstanovitel'naya medicina: Monografiya. Pod red. A.A. Hadarceva, S.N. Gontareva, L.G. Agasarova [Restorative medicine: Monograph. Under the editorship of A. A. Khadartsev, S. N. Gontareva, L. G. Agasarov]. Tula: Izd-vo TulGU – Belgorod: ZAO «Belgorodskaya oblastnaya tipografiya»; 2011. T. IV. Russian.

7. Мальцева Л.И., Васильева Э.Н. Новые подходы к оценке роли витамина Д3 в репродуктивном здоровье женщины // Практическая медицина. 2013. № 7. С. 42–47.

7. Mal'ceva LI, Vasil'eva EHN. Novye podhody k ocenke roli vitamina D3 v reproduktivnom zdorov'e zhenshchiny [New approaches to assessing the role of vitamin D3 in women's reproductive health]. Prakticheskaya medicina. 2013;7:42-7. Russian.

8. Медведев Б.И., Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л., Казачкова Э.А. Экстрагенитальные заболевания и социальный статус женщин при самопроизвольном аборте // Акушерство и гинекология. 2012. № 4/2. С. 97–102.

8. Medvedev BI, Voropaeva EE, Kazachkov EL, Kazachkova EHA. EHkstragenital'nye zabolevaniya i social'nyj status zhenshchin pri samoproizvol'nom aborte [Extragenital diseases and social status of women in spontaneous abortion]. Akusherstvo i ginekologiya. 2012;4/2:97-102. Russian.

9. Радзинский В.Е. Акушерская агрессия, v. 2.0. М.: Изд-во журнала StatusPraesens, 2017. 872 с.

9. Radzinskij VE. Akusherskaya agressiya, v. 2.0. [Obstetric aggression, V. 2.0]. Moscow: Izd-vo zhurnala StatusPraesens; 2017. Russian.

10. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Волков В.Г., Хадарцева К.А., Карасева Ю.В., Хромушин В.А., Гранатович Н.Н., Гусак Ю.К., Чуксеева Ю.В., Паньшина М.В. Медико-биологические аспекты реабилитационно-восстановительных технологий в аку-

10. KHadarcev AA, Morozov VN, Volkov VG, KHadarceva KA, Karaseva YUV, KHromushin VA, Granatovich NN, Gusak YUK, CHukseeva YUV, Pan'shina MV. Mediko-biologicheskie aspekty reabilitacionno-vosstanovitel'nykh tekhnologij v akusherstve: mono-

шерстве: монография / Под ред. Хадарцевой К.А. Тула: ООО «Тульский полиграфист», 2013. 222 с.

grafiya [Medical and biological aspects of rehabilitation and rehabilitation technologies in obstetrics: monograph]. Pod red. KHadarcevoj K.A. Tula: OOO «Tul'skij poligrafist»; 2013. Russian.

11. Atiakshin D., Samoilova V., Buchwalow I., Boecker W., Tiemann M. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification // Histochemistry and Cell Biology. 2017. N 6. P. 683–694.

11. Atiakshin D, Samoilova V, Buchwalow I, Boecker W, Tiemann M. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification. Histochemistry and Cell Biology. 2017;6:683-94.

12. Buchwalow I.B., Boecker W. Immunohistochemistry: basics and methods. Springer, 2010.

12. Buchwalow IB, Boecker W. Immunohistochemistry: basics and methods. Springer; 2010.

13. Grundmann M., Haidar M., Placzko S., Niendorf R., Darashchonak N., Hubel C.A., von Versen-Höynck F. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2012. Vol. 303. P. 954–962.

13. Grundmann M, Haidar M, Placzko S, Niendorf R, Darashchonak N, Hubel CA, von Versen-Höynck F. Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2012;303:954-62.

14. Jensen F., Woudwyk M., Teles A., Woidacki K., Taran F., Costa S., Malfertheiner S.F., Zenclussen A.C. Estradiol and progesterone regulate the migration of mast cells from the periphery to the uterus and induce their maturation and degranulation // PloS one. 2010. № 5. P. 14409.

14. Jensen F, Woudwyk M, Teles A, Woidacki K, Taran F, Costa S, Malfertheiner SF, Zenclussen AC. Estradiol and progesterone regulate the migration of mast cells from the periphery to the uterus and induce their maturation and degranulation. PloS one. 2010;5:14409.

15. Liu Z., Kilburn B.A., Leach R.E., Romero R., Paria B.C., Armant D.R. Histamine enhances cytotrophoblast invasion by inducing intracellular calcium transients through the histamine type-1 receptor // Mol.Reprod. Dev. 2004. Vol. 68, № 3. P. 345–353.

15. Liu Z, Kilburn BA, Leach RE, Romero R, Paria BC, Armant DR. Histamine enhances cytotrophoblast invasion by inducing intracellular calcium transients through the histamine type-1 receptor. Mol.Reprod. Dev. 2004;68(3):345-53.

16. Ota K., Dambaeva S., Kim M.W., Han A.R., Fukui A., Gilman-Sachs A., Beaman K., Kwak-Kim J. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulates NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy losses // Europ. J. of immunology. 2015. Vol. 45, № 11. P. 3188–3199.

16. Ota K, Dambaeva S, Kim MW, Han AR, Fukui A, Gilman-Sachs A, Beaman K, Kwak-Kim J. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulates NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy losses. Europ. J. of immunology. 2015;45(11):3188-99.

17. Sauer M.V. Reproduction at an advanced maternal age and maternal health // Fertil. Steril. 2015. Vol. 103, №5. P. 1136–1143.

17. Sauer MV. Reproduction at an advanced maternal age and maternal health. Fertil. Steril. 2015;103(5):1136-43.

18. Wernersson S., Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle // Nat. Rev. Immunol. 2014. Vol. 14. P. 478–494.

18. Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. Nat. Rev. Immunol. 2014;14:478-94.

19. Woidacki K., Popovic M., Metz M., Schumacher A., Linzke N., Teles A., Poirier F., Fest S., Jensen F., Rabinovich G.A., Maurer M., Zenclussen A.C. Mast cells rescue implantation defects caused by c-kit deficiency // Cell death & disease. 2013. № 4. P. 462.

19. Woidacki K, Popovic M, Metz M, Schumacher A, Linzke N, Teles A, Poirier F, Fest S, Jensen F, Rabinovich GA, Maurer M, Zenclussen AC. Mast cells rescue implantation defects caused by c-kit deficiency. Cell death & disease. 2013;4:462.

20. Zheng X.H., Zhang G.D., Zhang G.H., Mai R.Q., Shen L. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on mast cells tryptase in asthmatic guinea pigs // Asian Pacific J. of Tropical Medicine. 2015. Vol. 8, Iss. 6. P. 494–497.

20. Zheng XH, Zhang GD, Zhang GH, Mai RQ, Shen L. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on mast cells tryptase in asthmatic guinea pigs. Asian Pacific J. of Tropical Medicine. 2015;8(6):494-7.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 28–33

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 28–33

УДК: 616.314-089.27:615.847.8 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16146

ПОВЫШЕНИЕ АДГЕЗИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ СВЕТООТВЕРЖДАЕМЫХ ОДНОКОМПОНЕНТНЫХ КОМПОЗИЦИОНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ГЕРМЕТИКОВ К ТВЕРДЫМ ТКАНЯМ ВРЕМЕННОГО ЗУБА, ПУТЕМ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА РАСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ДО ПЛОМБИРОВАНИЯ

Ю.А. ИППОЛИТОВ[*], А.В. КОСТЮЧЕНКО[**], А.В. ЛАТЫНИН[***], Е.В. КОНТОРИНА[*], А.А. САВВИНА[*], Ю.С. РАССКАЗОВА[*]

[*]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Студенческая, д. 10, Воронеж, 394036, Россия, e-mail: dsvgma@mail.ru

[**]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России, Университетская площадь, д. 1, г. Воронеж, 394018, Россия, e-mail: office@main.vsu.ru

[***]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова» Минобрнауки РФ, ул. Тимирязева, д. 8, Воронеж, 394087, Россия, e-mail: vglta@vglta.vrn.ru

Аннотация. Одной из самых ранних и распространенных форм кариеса временных зубов, является фиссурный кариес. Клинические наблюдения последних лет свидетельствуют о том, что 80% всех кариозных полостей у детей от 5 до 15 лет расположены в фиссурах и ямках.

В связи с этим, повышение адгезионных возможностей стоматологических материалов для герметизации фиссур временных зубов, является актуальной проблемой стоматологии, так как это позволило бы снизить процент возникновения вторичного кариеса.

Цель исследования: оценить влияние магнитного поля на адгезию стоматологических однокомпонентных светоотверждаемых композиционных герметиков к твердым тканям временного зуба, а так же уточнить время сохранения эффекта воздействия магнитного поля на исследуемые пломбировочные материалы.

Исследуемые пломбировочные материалы: *Filtek Ultimate 3M ESPE, Clinpro Sealant 3M ESPE, Filtek Bulk Fill 3M ESPE, Constik* фирмы *DMG*, помещали в высоковольтную установку для обработки композиционных стоматологических материалов постоянным магнитным полем на 20 минут при напряженности магнитного поля от 22×10^4 Ампер/метр (А/м). После обработки материалов магнитным полем их использовали в подготовке образцов для оценки адгезии к твердым тканям временных зубов через определенные промежутки времени – 24 часа, 96 часов, 168 часов.

Результаты исследования и их обсуждения: **о**пределение адгезивной прочности соединения светоотверждаемых однокомпонентных композиционных герметиков с твердыми тканями временных зубов показало, что после воздействия магнитного поля на пломбировочные материалы и их использования для исследования после 24 часов пребывания в воде, значения на разрыв увеличились в стоматологических герметиках *Filtek Ultimate* в 5 раз, в *Clinpro Sealant* в 2 раза, в *Constik* в 2,7 раза., в сравнении с контрольными образцами герметиков, которые не были подвержены обработке магнитного поля, при этом повышение адгезионной способности этих материалов сохраняется в течении 4-х суток, а затем достоверных различий, в адгезии этих материалов с материалами, не подверженных воздействию магнитного поля, не обнаруживается. Стоматологический герметик *Filtek Bulk Fill* не имел достоверных различий по адгезионной прочности, как до обработки магнитным поле, так и после нее.

Ключевые слова: магнитное поле, светоотверждаемые композиционные стоматологические герметики, адгезия к твердым тканям зуба.

Актуальность проблемы. Одной из самых ранних и распространенных форм кариеса временных зубов, является фиссурный кариес. Клинические наблюдения последних лет свидетельствуют о том, что 80% всех кариозных полостей у детей от 5 до 15 лет расположены в фиссурах и ямках [3]. В связи с этим, повышение адгезионных возможностей стоматологи-

ческих материалов для герметизации фиссур временных зубов, является актуальной проблемой стоматологии, так как это позволило бы снизить процент возникновения вторичного кариеса.

Изменения физико-химических свойств расходных стоматологических материалов возможно после воздействия на них электрическим полем, напряженностью до 75В/см, что способствует приобретению стоматологическим цементов антибактериальных свойств, а так же повышение его адгезии до 30% [7].

Электромагнитное поле способно изменять физико-механические прочностные параметры композитных пломбировочных материалов, при этом они приобретают новые физико-механические свойства [4].

Из технической литературы известно, что повышение адгезионной прочности клеевых соединений древесины при обработке клея электрическим полем, объясняется увеличением молекулярных, электрических и диффузионных связей. Согласно адсорбционной теории адгезии, повышение адгезионной прочности клеевого соединения, достигается накоплением полярных групп полимерного компонента клея, уменьшением молекулярной массы, повышением подвижности цепей, а так же изменениям вязкости [2,5]. Известно так же о структурных изменениях полимерных материалов в магнитном поле за счет направленной ориентации и упрочнения, то есть повышения микротвердости оттверждаемой композиции, при этом структурное состояние становится более однородным [6,8].

Сверх высокие частоты электромагнитного поля способны ускорять отверждение эпоксидной смолы, что по мнению авторов связано с саморазогревом за счет большой теплоты полиаминовой эпоксиполимеризации [1].

Таким образом, влияние магнитного поля на структуру стоматологических расходных материалов и изменения их физико-химических свойств, является актуальной задачей современных научных исследований.

Цель исследования – оценить влияние магнитного поля на адгезию стоматологических однокомпонентных светоотверждаемых композиционных герметиков к твердым тканям временного зуба, а так же уточнить время сохранения эффекта воздействия магнитного поля на исследуемые пломбировочные материалы.

Материалы и методы исследования. Каждый из исследуемых пломбировочных материалов: *Filtek Ultimate 3M ESPE, Clinpro Sealant 3M ESPE, Filtek Bulk Fill 3M ESPE, Constik* фирмы *DMG* находился в заводской упаковке(шприце), который помещали в высоковольтную установку для обработки композиционных стоматологических материалов постоянным магнитным полем на 20 минут при напряженности магнитного поля от 22×10^4 Ампер/метр(А/м)

После обработки материалов магнитным полем их использовали в подготовке образцов для оценки адгезии к твердым тканям временных зубов через определенные промежутки времени – 24 часа, 96 часов, 168 часов. Для этой цели были сформированы три группы по 10 образцов каждого материала в каждой группе для каждого временного промежутка. Группу контроля составили по 10 образцов каждого материала, который не подвергался магнитному воздействию.

Определение адгезионной прочности соединения светоотверждаемого однокомпонентного композиционного герметика с твердыми тканями временного зуба проведено на основании межгосударственного стандарта ГОСТ 31574-2012 для стоматологических полимерных восстановительных материалов.

Испытания были проведены на разрывной испытательной машине РПМ-10МГ4 ООО «СКБ Стройприбор» г. Челябинск (рис. 1).

Для определения адгезионной прочности расходных стоматологических материалов-герметиков: *Filtek Ultimate* фирмы *3M ESPE*, *Clinpro Sealant* фирмы *3M ESPE, Filtek Bulk Fill* фирмы *3M ESPE, Constik* фирмы *DMG* использовали 80 временных зубов, удаленных по ортодонтическим показаниям. Каждый зуб распиливали на 2 части в сагиттальном направлении с помощью алмазного диска при скорости 1500 об/мин под водяным охлаждением. Половинку зуба монтировали с помощью самотвердеющей пластмассы Протакрил-М в блок, таким образом, чтобы рабочая поверхность зуба выступала над поверхностью пластмассы, но не более чем на 1 мм (рис. 2).

При подготовке образцов к испытаниям, поверхность дентина и эмали обезжиривали тампоном, смоченным этиловым спиртом, затем на поверхность зуба накладывали полиэфирные колечки диаметром 3 мм, так чтобы отверстие приходилось на испытуемую поверхность. После чего подготавливали поверхность зуба в соответствии инструкции изгото-

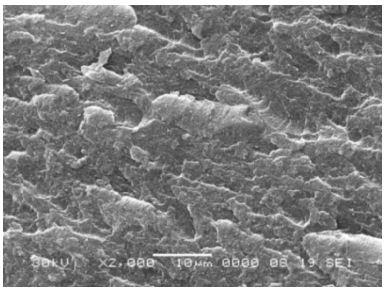
вителя и проводили травление. нанесение адгезива, либо не проводили травление в случае с материалом *Constik*, так как по инструкции производителя он имеет самопротравливающий компонент. Цилиндрическое отверстие кольца заполняли испытуемым материалом, герметики отверждали в соответствии с инструкцией – полимеризация герметика светом полимеризационной лампы длинной волны 450 нм в течение 40 сек. Полиэфирное кольцо аккуратно удаляли и подготовленные образцы сразу после изготовления помещали в воду комнатной температуры (23±1)°*C* и выдерживали в течение 24 часов.

Для испытания образцы извлекали из воды, удаляли влагу с поверхности образцов фильтровальной бумагой и закрепляли металлический блок в зажим испытательной машины. После чего включали машину и записывали значения при котором происходит разрушение склеенного образца по поверхности раздела. Растровую электронную микроскопию и рентгенспектральный микрохимический анализ сколов 24 удаленных временных зубов проводили с помощью низковакуумного растрового электронного микроскопа модели «*JEOL JSM-6380LV*» (Япония). Сколы зубов, предварительно запломбированные стоматологическими герметиками перед рентгенспектральным микрохимическим анализом не высушивали и не покрывали углеродной пленкой, чтобы не получить погрешность полученных данных, в частности, по углероду. Химическую адгезию пломбировочных материалов оценивали с помощью рентгенспектрального микрохимического анализа при увеличении от 500 до 30000 крат. Распределение химических элементов в области границы пломбировочного материала к твердым тканям зуба исследовали методом микрорентгенспектрального картирования поперечных сколов зубов с помощью системы энергодисперсионного анализа *INCA*-250. Планарное распределение химических элементов оценивали по окраске рентгеновского изображения разными цветами, задаваемыми оператором, что позволило оценить их взаимное проникновение.

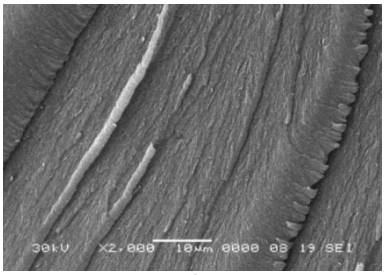
Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью результатов стандартного пакета программного обеспечения *Statistica* 8.0. Были оценены такие параметры, как стандартная ошибка среднего, ассиметрия, минимальное значение данных, максимальное значение данных. В качестве показателя, характеризующего разброс данных использован вариационный размах Mean. Для групп сравнения был использован непараметрический критерий различия *U*-критерий *Mann-Whitney*. При обработке данных значимыми признавались различия при $p<0,05$, полученные при сравнении показателей.

Результаты и их обсуждения. Определение адгезивной прочности соединения светоотверждаемых однокомпонентных композиционных герметиков с твердыми тканями временных зубов показало, что после воздействия магнитного поля на пломбировочные материалы и их использования для исследования после 24 часов пребывания в воде, значения на разрыв увеличились в стоматологических герметиках *Filtek Ultimate* в 5 раз, в *Clinpro Sealant* в 2 раза, в *Constik* в 2,7 раза, в сравнении с контрольными образцами герметиков, которые не были подвержены обработке магнитного поля. В стоматологическом материале *Filtek Bulk Fill* повышение адгезивной прочности, в отличии от других исследуемых материалов, достоверно не увеличилось, вероятно из-за изменения рецептуры нового композиционного материала с заменой в нем светополимеризующейся смолы, которая остается инертной к воздействию магнитного поля, где мономеры *AFM* и *AUDMA* имеют большой размер молекул, что позволяет снизить полимеризационную усадку и вызванный ей стресс, в отличии от герметиков с традиционными полимерными матрицами, содержащими *Bis-GMA*, *UDMA, TEGDMA* олигомеры. Видимо, магнитное поле при воздействии на традиционные герметики *Filtek Ultimate*, *Clinpro Sealant*, *Constik* делает их структурное состояние более однородным, имеющим направленную организацию, тогда как стоматологический материал *Filtek Bulk Fill* структурных изменений не притерпевает (рис. 1,2).

Спустя 96 часов (4 суток) адгезивная прочность в материале *Filtek Ultimate* снизилась до 4,25±1,17 МПа, но оставалась выше контрольных значений этого материала до воздействия магнитного поля в 2,5 раза. Адгезивная прочность композиционных материалов *Clinpro Sealant* и *Constik*, так же снизилась до 4,21±0,19 МПа и 2,51±1,12 МПа соответственно, но оставалась выше контрольных значений адгезии до воздействия магнитного поля в 1, 1 и 1,6 раза соответственно.

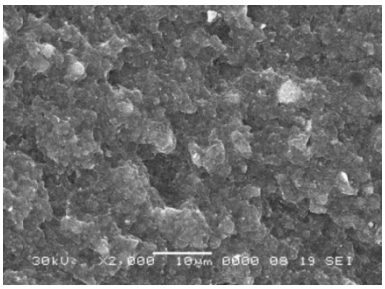


а

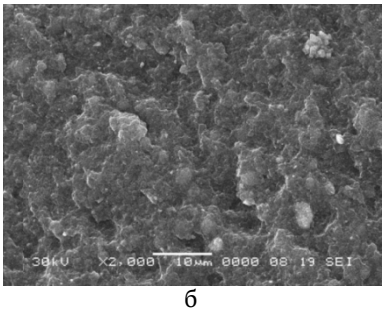


б

Рис. 1. Структурное состояние стоматологического герметика *Clinpro Sealant*: а – без обработки магнитным полем; б – после обработки магнитным полем. Электронное изображение скола герметика в режиме вторичной электронной эмиссии. Увеличение ×2000 крат



а



б

Рис. 2. Структурное состояние стоматологического герметика *Filtek Bulk Fill*: а – без обработки магнитным полем; б – после обработки магнитным полем. Электронное изображение скола герметика в режиме вторичной электронной эмиссии. Увеличение ×2000 крат

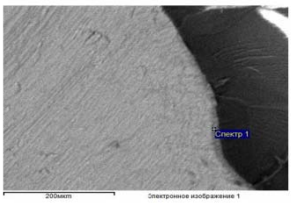
Через 168 часов (7 суток) достоверных значений повышения адгезивной прочности соединения светоотверждаемых однокомпонентных композиционных герметиков с твердыми тканями временных зубов, обнаружено не было (табл.).

Таблица

Показатели адгезионной прочности световых однокомпонентных композиционных герметиков к твердым тканям временного зуба до и после воздействия магнитного поля (в Мега паскалях МПА)

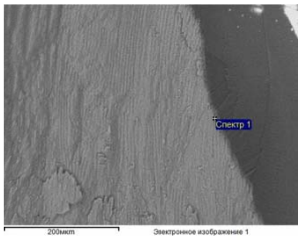
Материалы / Время	Электромагнитное поле	24 часа	96 часов	168 часов
Filtek Ultimate		1,71±0, 09		
Clinpro Sealant		3,86±0,12		
Filtek Bulk Fill		1,21±0,08		
Constik		1,57±0, 09		
Filtek Ultimate	+	9,14±1,15*	4,25±1,17*	1,92±0,21
Clinpro Sealant	+	7,71±0,13*	4,21±0,19*	3,78±0,19
Filtek Bulk Fill	+	1,32±0,11	1,31±0,16	1,29±0,07
Constik	+	4,21±0,18*	2,51±1,12*	1,53±0,11

Примечание: * – достоверность различий с группой контроля стоматологических материалов, неподверженных обработки магнитнымполем $p<0,05$



Элемент	Весовой %	Атомный%
C	41.69	53.76
O	39.11	37.86
Na	0.29	0.19
Si	0.62	0.34
P	6.70	3.35
Cl	0.31	0.14
Ca	11.28	4.36
Итоги	100.00	

Рис. 3. Электронное изображение и рентгенспектральный микрохимический анализ распределения химических элементов на границе дентина стоматологического герметика *Clinpro Sealant* не подверженного магнитной обработке. Увеличение ×200 крат



Элемент	Весовой %	Атомный%
C	42.77	53.54
O	36.10	37.71
Si	4.48	2.14
P	6.61	3.26
Ca	10.04	4.35
Итоги	100.00	

Рис. 4. Электронное изображение и рентгенспектральный микрохимический анализ распределения химических элементов на границе дентина стоматологического герметика *Clinpro Sealant* подверженного магнитной обработке. Увеличение ×200 крат.

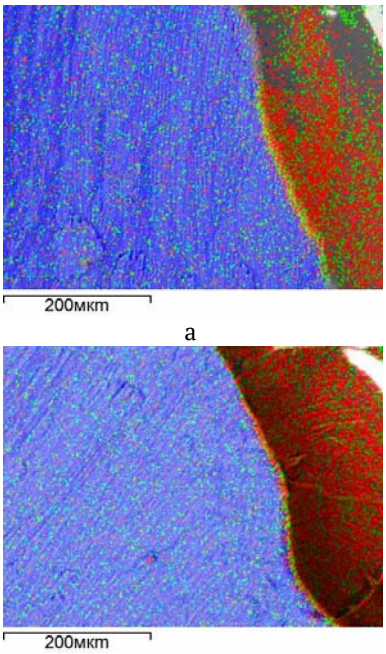


Рис. 5. Рентгеновская карта распределения химических элементов на границе прилегания дентина к стоматологическому герметику *Clinpro Sealant* (кальций – синий, кремний – красный, кислород – зеленый). а – без обработки магнитным полем; б – после обработки магнитным полем.

С помощью рентгенспектрального микрохимического анализа были исследованы участки дентина зуба в зоне прилегания к стоматологическому герметику, а так же глубже расположенных слоях коронкового дентина. Установлено проникновение химических элементов из пломбировочных материалов в наружный слой дентина, прилегающего к стоматологическому герметику. При обработке стоматологического герметика магнитным полем перед пломбированием зуба адгезионная прочность повышается за счет химической адгезии – повышение проникновения кремния в структуру дентинных канальцев 4.41±0,09 (контроль – 0,61±0,08) (рис 3,4,5).

Выводы. Прочность адгезии светоотверждаемых однокомпонентных композиционных стоматологических герметиков к твердым тканям временного зуба после воздействия на расходный стоматологический материал магнитного поля перед применением для пломбирования, повышается у *Filtek Ultimate, Clinpro Sealant, Constik*, при этом повышение адгезионной способности этих материалов сохраняется в течении 4-х суток, а затем достоверных различий, в адгезии этих материалов с материалами, не подверженных воздействию магнитного поля, не обнаруживается. Стоматологический герметик *Filtek Bulk Fill* не имел достоверных различий по адгезионной прочности, как до обработки магнитным поле, так и после нее.

Проведенная оценка действия магнитного поля на стоматологические герметики безусловно требует дальнейших исследований, а так же дискуссий по поводу перспективы и целесообразности применения в детской стоматологической практике.

IMPROVEMENT OF ADHESION OPPORTUNITIES OF LIGHT-CONFORMED ONE-COMPONENT COMPOSITE DENTISTRY HERMITICS TO SOLID TISSUE OF THE TEMPORAL TOOTH THROUGH THE IMPACT OF THE MAGNETIC FIELD ON SUPPLY MATERIAL BEFORE SEALING

YU. A. IPPOLITOV[*], A.V. KOSTYUCHENKO[**], A.V. LATININ[***], E.V. KONTORINA[*], A.A. SAVVINA[*], YU.S. RASSKAZOVA[*]

[*]*Educational Institution of Higher Professional Education "Voronezh State Medical University", Studencheskaya str., 10, Voronezh, 394036, Russia, e-mail: dsvgma@mail.ru*
[**]*Educational Institution of Higher Professional Education "Voronezh State University", University square, 1, Voronezh, 394018, Russia, e-mail: office@main.vsu.ru*
[***]*Educational Institution of Higher Professional Education "Voronezh State G.F. Morozov University of Forestry and Technologies", 8, Timiryazeva str., Voronezh, 394087, Russia, e-mail: vglta@vglta.vrn.ru*

Abstract. One of the earliest and most common forms of caries of temporary teeth is fissure caries. Clinical observations of recent years indicate that 80% of all carious cavities in children from 5 to 15 years are located in the fissures and pits. In this regard, increasing the adhesion capacity of dental materials for sealing temporary teeth fissure is an urgent problem of dentistry, as it would reduce the percentage of secondary caries. The research purpose was to evaluate the influence of the magnetic field on the adhesion of dental one-component light-curing composite sealants to the hard tissues of the temporary tooth , as well as to clarify the time of preservation of the effect of the magnetic field on the studied filling materials. The investigated filling materials: Filtek Ultimate-3M ESPE, Clinpro Sealant 3M ESPE, Filtek Bulk Fill 3M ESPE,

Constik DMG was placed in a high voltage installation for composite dental materials permanent magnetic field for 20 min. at a magnetic field of 22x10 4 Amps/meter(a/m). After processing of materials by magnetic field they were used in preparation of samples for assessment of adhesion to hard tissues of temporary teeth at certain intervals - 24 hours, 96 hours, 168 hours. The results of the study and their discussion: determination of adhesive strength of the compound of light-cured single-component composite sealants with hard tissues of temporary teeth showed that after exposure to the magnetic field on the filling materials and their use for the study after 24 hours in the water, the values for the gap increased in dental sealants Filtek Ultimate 5 times In, in comparison with reference samples of sealants that were not subject to magnetic field treatment, at the same time, the increase in the adhesive ability of these materials is maintained for 4 days, and then significant differences in the adhesion of these materials with materials that are not exposed to the magnetic field are not detected. Dental sealant Filtek Bulk Fill had no significant differences in adhesive strength, both before and after magnetic field treatment.

Key words: magnetic field, light-curing composite dental sealants, adhesion to hard tooth tissues.

Литература

1. Архангельский Ю.С. СВЧ электротермия. Саратов: СГТУ, 1998. 408 с.

2. Воронежцев Ю.И., Гольдаде В.А., Пинчук Л.С. Электрические и магнитные поля в технологии полимерных композитов. Минск: Навука I тэхника, 1990. 263 с.

3. Детская терапевтическая стоматология: нац. руко-во / под ред. В.К. Леонтьева, Л.П. Кисельниковой. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 896 с.

4. Кунин А.А., Моисеева Н.С., Туровский Я.А. Сравнительная оценка физико-механических прочностных параметров композитных пломбировочных материалов до и после воздействия электромагнитного поля // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №3. С. 164–167.

5. Мозговой Н.В. Прочность клеевых соединений древесины на основе электрообработанных клеев // Научный журнал КубГау. 2012. № 75. С. 1–10.

6. Молчанов Ю.М., Кисис Ю.М., Родин Ю.П. Структурные изменения полимерных материалов в магнитном поле // Механика полимеров. 1973. № 4. С. 737–761.

7. Гринчик Н.Н., Савицкий В.П., Кукаренко В.А., Козлов С.В., Дудзяк В., Рижма М.И. Патент РФ № 2080853.Способ приготовления пломбировочного материала. Опубл. 10.06.1997.

8. Попов В.М., Латынин А.В. К созданию клееной древесины повышенной прочности на основе клеев, модифицированных воздействием комбинированных физических полей // Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. 2014. Т. 2, №2.1. DOI: 10.12737/3004

References

1. Arhangel'skij YUS. SVCH ehlektrotermiya [Microwave electrothermics]. Saratov: SGTU; 1998. Russian.

2. Voronezhcev YUI, Gol'dade VA, Pinchuk LS. EHlektricheskie i magnitnye polya v tekhnologii polimernyh kompozitov [Electric and magnetic fields in polymer composite technology]. Minsk: Navuka I tehkhnika; 1990. Belarus.

3. Detskaya terapevticheskaya stomatologiya: nacional'noe rukovodstvo pod red. V.K. Leont'eva, L.P. Kisel'nikovoj [Children's therapeutic dentistry: national leadership under the ed. V. K. Leontiev, L. p. Kiselnikova]. Moscow: GEHOTAR-Media; 2010. Russian.

4. Kunin AA, Moiseeva NS, Turovskij YAA. Sravnitel'naya ocenka fiziko-mekhanicheskih prochnostnyh parametrov kompozitnyh plombirovochnyh materialov do i posle vozdejstviya ehlektromagnitnogo polya [Comparative evaluation of physical and mechanical strength parameters of composite filling materials before and after exposure electromagnetic field]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2016;3:164-7. Russian.

5. Mozgovoj NV. Prochnost' kleevyh soedinenij drevesiny na osnove ehlektroobrabotannyh kleev [Strength of wood adhesive joints based on electrically treated adhesives]. Nauchnyj zhurnal KubGau. 2012;75:1-10. Russian.

Molchanov YUM, Kisis YUM, Rodin YUP. Strukturnye izmeneniya polimernyh materialov v magnitnom pole [Structural changes of polymer materials in the magnetic field]. Mekhanika polimerov. 1973;4:737-61. Russian.

6. Grinchik NN, Savickij VP, Kukarenko VA, Kozlov SV, Dudzyak V, Rizhma MI; inventors; Sposob prigotovleniya plombirovochnogo materiala [Method of preparation of filling material]. Russian Federation patent RU № 2080853; 1997. Russian.

7. Popov VM, Latynin AV. K sozdaniyu kleenoj drevesiny povyshennoj prochnosti na osnove kleev, modificirovannyh vozdejstviem kombinirovannyh fizicheskih polej [To the creation of high-strength laminated wood based on adhesives, modified by the effect of combined physical fields]. Aktual'nye napravleniya nauchnyh issledovanij XXI veka: teoriya i praktika. 2014;2(2.1). DOI: 10.12737/3004. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 34–43
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 34–43

УДК: 612.63 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16147

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ АКУШЕРСКОЙ И СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ (обзор литературы)

З.А. ВОРОНЦОВА, О.Д. ЖИЛЯЕВА, А.С. ГУРЕЕВ

ФГБОУ ВО ВГМУ ИМ. Н. Н. Бурденко Минздрава России, ул. Студенческая, д. 10, Воронеж, 394036, Россия

Аннотация. В условиях существующего демографического кризиса сохранение и укрепление репродуктивного здоровья женщины представляет собой важнейшую общемедицинскую и социальную задачу. Учитывая, что гистологические и физиологические особенности плаценты являются универсальным индикатором состояния плода, течения и исхода беременности, дальнейшее изучение функционального состояния плаценты, механизмов формирования патологических изменений в ней весьма актуально. Многочисленными исследованиями установлен целый ряд физических, химических, а также биологических факторов, оказывающих влияние на формирование нарушений в системе мать-плацента-плод. До настоящего времени не существует единого мнения о биологической модели беременности как феномена интимного существования двух генетически чужих организмов. Длительное время взаимоотношения матери и плода рассматривались как потенциально «враждебные» - плод как семиаллотрансплантант, чужеродный в антигенном отношении, «избегающий», в силу различных ухищрений, прямого конфликта с организмом матери. В течение последнего десятилетия сложилось устойчивое мнение о наличии «партнерства» материнских и плодовых тканей, своеобразной иммунологической толерантности иммунной системы матери к плоду, выработавшейся в процессе эволюции. Несомненно, что значительную роль в материнско-фетальных взаимоотношениях занимают клеточные популяции плаценты, а также механизмы регулирования этих взаимоотношений, опосредованных цитокинами и различными группами факторов роста. В статье представлены современные представления особенностей строения плаценты при акушерской и соматической патологии.

Ключевые слова: плацента, невынашивание беременности, преэклампсия, железодефицитная анемия.

Одним из наиболее частых и серьезных осложнений беременности и родов являются кровотечения, частота которых составляет 4-12% и, занимающее одно из первых мест в списке причин материнской и перинатальной смертности. Стабильным остается удельный вес кровотечений, связанных с преждевременной отслойкой плаценты (0,5-1,5%) [1,7]. Микроскопическое исследование плацент при преждевременно отслойке плаценты выявило преобладание хорионамнионита, лейкоцитарной и лимфоцитарной инфильтрации децидуальной пластинки в сроке гестации 22-27 недель, что свидетельствует в пользу восходящего инфицирования [2,7]. В сроке гестации 28-36 недель достоверно чаще регистрируется меньшая васкуляризация терминальных ворсин, недостаточная гестационная перестройка спиральных артерий, меньшая доля внутрисосудистого цитотрофобласта в децидуальной пластинке, склероз терминальных ворсин и относится к изменениям, характерным для плацентарной недостаточности. Увеличение синцитио-капиллярных мембран и синцитио-капиллярных почек свидетельствует о напряжении компенсаторно-приспособительных реакций. В сроке гестации 37-41 неделя также преобладают синцитио-капиллярные мембраны и синцитио-капиллярные почки. В доношенных плацентах характерными морфологичесими признаками служит преобладание инволютивно-дистрофических изменений (склероз терминальных ворсин), что в свою очередь является следствием длительно развивающейся патологии последа и развитием компенсаторно-приспособительных реакций. Также достоверно чаще регистрируется хорионамнионит [3].

Вызывают интерес данные, полученные при исследовании особенностей субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток плацент после преждевременной отслойки. Доказано, что основной функцией *CD*8 (цитотоксических лимфоцитов) является распознавание пептидных фрагментов чужеродных белков, встроенных в аутологичные молекулы гисто-

совместимости, то есть *Т*-лимфоциты распознают не чужеродные клетки, а измененные клетки собственного организма [2,7]. *Т*-хелперы (*CD*4) при взаимодействии с чужеродными антигенами, в том числе плодовыми, распознают их, следствием такого специфической иммунной реакции на отцовские антигены является накопление и пролиферация определенных клонов Т-лимфоцитов [2,4]. При анализе экспрессии кластера дифференцировки *CD*20 (В-лимфоцитов) в плацентах после преждевременной отслойки достоверно чаще определяется увеличение их количества в сроках гестации 22 до 36 недель. Установлено статистически достоверное отличие экспрессии кластера дифференцировки *CD*4 плацент женщин, беременность которых закончилась преждевременной отслойкой плаценты в срок гестации от 27 до 36 недель. У женщин, беременность которых закончилась преждевременной отслойкой плаценты в сроке гестации от 37 недель и более, данный показатель в шесть раз ниже. Обращает на себя внимание, что в плацентах после преждевременной отслойки в сроке гестации от 28 до 36 недель значительно превышен индекс *CD*4/*CD*8 до 5,33 за счет увеличения *Т*-хелперов. В норме соотношение *CD*4/*CD*8 составляет 0,32-1,1. Таким образом, независимо от патогенетических аспектов, предрасполагающих к преждевременной отслойке плаценты, во всех плацентах женщин с данной патологией увеличивается число *NK*-клеток. При исследовании плацент в сроках гестации 22-36 недель беременности достоверно более усилена экспрессия *CD*20. В плацентах с преждевременной отслойкой плаценты в сроке 28-36 недель беременности статистически достоверно усилена экспрессия кластера дифференцировки *CD*4 [4,6].

Повышение экспрессии *CD*20 наряду с нормальным соотношением *CD*4/*CD*8, доказывает наличие иммунной реакции, развившейся в ответ на бактериальную инфекцию. Увеличение количества *CD*20 и *CD*4-лимфоцитов могут свидетельствовать о срыве иммунологической толерантности материнского организма по отношению к плоду. Такая своеобразная иммунологическая лояльность обусловлена рядом факторов [2]. Наибольшую роль играют гормоны и специфические белки плаценты. Выраженными иммунодепрессивными свойствами обладают хорионический гонадотропин, плацентарный лактоген, глюкокортикоиды, прогестерон и эстрогены, синтезирующиеся плацентой во время беременности. Подавлению реакций иммунитета материнского организма способствуют альфа-фетопротеин – белок, продуцируемый эмбриональными клетками печени, а также некоторые белки плаценты зоны беременности (альфа-2-гликопротеин и трофобластический бета-1-гликопротеид). Трофобластический, а затем и плацентарный барьеры, разделяющие организм матери и плода, обеспечивают наличие выраженных защитных функций. Кроме этого, слой аморфного фибриноидного вещества, состоящий из мукополисахаридов и окружающий трофобласт со всех сторон, надежно защищает плод от иммунологической агрессии материнского организма [2,20].

Независимо от патогенетических аспектов, предрасполагающих к преждевременной отслойке плаценты, установлено увеличение числа *NK*-клеток (*CD*56+). Участвуя в имплантации и децидуализации, *NK*-клетки оказывают непосредственное влияние на процессы ремоделирования спиральных артерий и поддержания децидуальной целостности. С развитием беременности они постепенно теряют цитотоксическую активность. При патологическом течении беременности *NK*-клетки активно продуцируют интерферон-альфа, интерферон-гамма, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО-альфа, ФНО-бета и другие медиаторы. Рядом авторов показано, что высокий уровень ФНО-альфа и *INF*-гамма в зоне плацентарного ложа коррелирует с высокой частотой случаев прерывания беременности. Данные цитокины способствуют образованию локальных тромбов, инфарктов и некрозов путем активизации свертывающей системы крови. В результате исследований установлена связь между увеличением количества *NK*-клеток в слизистой оболочке матки и недостаточной выработкой природных стероидов. Учитывая эти данные, *NK*-клетки могут быть использованы в качестве маркера стероидной недостаточности. Наличие иммунного ответа любой этиологии (инфекционной, аутоиммунной, тромбообразование) как правило, дает начало возникновению цепной реакции в виде усиления синтеза провоспалительных цитокинов, действующих на трофобласт, стимулирующий в свою очередь, производство матричной металлопротеиназы. Увеличение производства матричной металлопротеиназы может привести к разрушению внеклеточного матрикса и межклеточных взаимодействий, след-

ствием которого является нарушение целостности тканей плаценты и, как результат, ее преждевременная отслойка [33].

Невынашивание беременности – один из основных видов акушерской патологии. Частота этого осложнения остается стабильной в течение многих лет и составляет 15-20% всех желанных беременностей. Состояние плаценты при преждевременных родах имеет свои особенности. Степень тяжести плацентарных нарушений зависит от адекватности кровоснабжения плаценты и характера воспалительных проявлений, что в свою очередь обуславливает клинические особенности течения беременности и риск наступления преждевременных родов. Морфология плаценты при плацентарной недостаточности определяется тяжестью заболевания [1,6,7].

Гистологические признаки плацентарных нарушений при преждевременных родах, патогенетически обусловленные инфицированием матери и плода характеризуются очаговой задержкой созревания ворсин, редукцией сосудистого русла, плотностью межворсинчатых промежутков, полиморфно клеточной воспалительной инфильтрацией, склерозированными ворсинками или ворсинками с истонченным хориальным эпителием, стазом форменных элементов крови в сосудах плаценты. При исключении инфекционного фактора недонашивания беременности, выявляются следующие морфологические признаки фето-плацентарной недостаточности: ранние изменения в сосудах децидуальной оболочки в виде спазма, облитерации просвета спиральных артерий, уменьшение объема сосудистого русла ворсинчатого дерева, уменьшение объема хориального эпителия и периферического трофобласта, увеличение отложений материнского и плодового фибриноида [2,22].

Существенное место среди причин, осложняющих течение беременности, родов и послеродового периода, и определяющих уровень заболеваемости, занимают экстрагенитальные заболевания. Актуальность проблемы *железодефицитной анемии* (ЖДА) определяется высокой частотой распространения данной патологии. По данным ВОЗ, частота ЖДА у беременных в разных странах колеблется от 21 до 80%. Наличие железодефицитной анемии у может послужить причиной развития осложнений течения беременности, родов, послеродового периода у женщин, а также неонатального периода новорожденного [1,6].

Исследование плацент женщин с ЖДА показало, что характерной морфофункциональной их особенностью являются диссоциированный тип созревания котиледонов, наличие псевдоинфарктов, афункциональных зон, фокальных некрозов ворсин, склероза стромы ворсин и их тромбоз. Увеличение склерозированных ворсин находится в прямой зависимости от степени тяжести анемии. При анемии легкой и средней степени тяжести сохранность синтициотрофобласта составляет 80-70%, тогда как при анемии тяжелой степени сохранность не превышает 60%. У пациенток достоверно разнятся морфологические характеристики плацент: у беременных, которые получали антианемическую терапию со II триместра беременности, наблюдались большая масса и размеры плаценты, полнокровие ворсин, сохранность синцитиотрофобласта, компенсаторные изменения митохондрий, что направлено на улучшение обмена в плаценте и сохранение ее способности к синтезу. При исследовании плацент у женщин с анемией тяжелой степени характерно увеличение склерозированных и фибриноидно–измененных ворсин, их патологическое сближение, облитерация сосудов, скопление эритроцитов в межворсинчатом пространстве, микроинфаркты [5,9,13].

В стрктуре экстрагенитальных заболеваний, осложняющих течение беременности и родов, патология почек занимает второе место, уступая только сердечно-сосудистым заболеваниям. Наиболее часто встречается пиелонефрит (10-15%). Морфологические изменения в плаценте при данной патологии характеризуются наличием «старых» и «молодых» синцитиальных почек, кальцинозом синцитиокапиллярных мембран, фокальными некрозами эпителия ворсин, склерозом стромы опорных и промежуточных ворсин, продуктивным париетальным хориодецидуитом, наличием афункциональных зон и продуктивным базальным децидуитом. В тяжелых случаях отмечается экссудативный интервиллузит, париетальный хориодецидуит, пуповинный флебит, экссудативный плацентарный хориоамнионит, мелкокистозные превращения цитотрофобласта [2,25].

По данным исследований Муминовой З.А. с соавт. [10], при *острых респираторных инфекциях* (ОРИ) наблюдаются признаки плацентарной дисфункции, причем в случаях осложнений в

виде пневмонии у 25% женщин отмечена предрасположенность к тромбообразованию. Необходимо также отметить тенденцию к повышению концентрации фибриногена и увеличению показателя фенатролинового теста. У этих же пациенток в плаценте обнаружены признаки воспалительного процесса, связанного, по всей видимости, с инфицированием. Это, естественным образом не может не повлиять на течение и исход беременности. В плацентах женщин с ОРИ, у которых произошли роды в сроке 37 недель, обнаружены признаки плацентарной недостаточности и воспаления различной степени выраженности (базальный децидуит, виллузит, интервиллузит).

Отличительной особенностью ворсинкового дерева плаценты в случаях рождения детей с *врожденными пороками развития* (ВПР) заключается в появлении ишемизированных и некротизированных участков. В плацентах, подверженных падулярной ишемии, наблюдали чередование резко ишемизированных, дистрофичных и гиперплазированных участков ворсинкового дерева. При этом большинство формирующихся *de novo* терминальных ворсин явно незрелые. Поля псевдоинфарктов микроскопически характеризовались хаотично разбросанными полосами ишемии, кальцинатами, резко гиперплазированными терминальными ворсинами афункционального типа. Также верифицирована апоплексия органа; в соответствующих зонах регистрируются явления интраплацентарного застоя, тромбоза и имбибиций. Центральные поля апоплексических участков подвержены некрозу и маляции, а по их периферии происходит резкий отек межворсинкового пространства и самих дистальных ворсин. В наблюдениях, где определяются одиночные или множественные массивные очаги истинных инфарктов, центральные зоны последних некротизированы и частично замещены фибрином и фибриноидом. Прилегающие к ним участки характеризуются резкой гиперплазией ворсинкового дерева, большинство терминальных ворсин явно незрелого и нефункционального характера. В плацентах с нарушениями кровообращения удельная площадь ишемизированных участков достигает 38,0±1,8% от общей площади материнской поверхности. При этом отмеченные участки значительно больше вблизи погибших, некротизированных и обызвествленных полей органа. Еще одной отличительной особенностью является наличие неактивных микрососудов [20].

В результат исследований выявлена прямая корреляционная связь объемных показателей структурных компонентов плацент женщин с врожденными пороками развития плода, проявляющихся нарастанием показателей стромы и межворсинкового пространства, межворсинкового пространства и артерий, синцитио- и периферического трофобласта [27].

Гистохимическими методами исследования плацент при данной патологии в участках деструкции обнаружено угнетение активности окислительно-восстановительных ферментов, резкое падение гидролитического потенциала неспецифических фосфатаз в составе нейтрофилов, макрофагов и клеток лимфоидного ряда, снижение маркера АТФ-азной активности. Явления ферментативной «диффузии» отмечены не только в просветах сосудов микроциркуляторного русла, но и в стенках кровеносных сосудов крупного калибра. Своё конкретное гистохимическое отражение перечисленные изменения находят в нарушениях активности и распределения дегидрогеназ анаэробного гликолиза ЛДГ и пентозного цикла Г-6-ФДГ или, тканевого дыхания СДГ, МДГ, ИДГц и терминального окисления НАД-Н и НАДФ-Н оксиредуктазы. Диформазан маркирующий участки активности этих ферментов и их внутриклеточное распределение по своим гистохимическим параметрам не соответствует аналогичным показателям солей тетразолия в физиологических условиях, а часто регистрируемые явления «ферментативной диффузии» в клетках фибробластического ряда, в эндотелии кровеносных сосудов, в лимфоидных элементах, в макрофагах, являются свидетельством угнетения энергообразования в соединительной ткани. Уже само по себе это обстоятельство следует рассматривать как функциональную основу подавления регенераторных возможностей соединительной ткани, органических возможностей клеток фибробластического ряда в синтезе различных волокон-ретикулиновых, коллагеновых и эластических. Если же к этим нарушениям прибавить угнетённый гидролитический распад АТФ, связанный с нарушениями микротопографии и активности АТФ-азы, становится очевидной причина гипотрофических процессов в эпителии и в соединительной ткани ворсин, истончения и декомпозиция волокнистого каркаса тканей плаценты [21,28].

До настоящего времени не существует единого мнения о биологической модели беременности как феномена интимного существования двух генетически чужих организмов. Длительное время взаимоотношения матери и плода рассматривались как потенциально «враждебные» – плод как семиаллотрансплантант, чужеродный в антигенном отношении, «избегающий», в силу различных ухищрений, прямого конфликта с организмом матери. В течение последнего десятилетия сложилось устойчивое мнение о наличии «партнерства» материнских и плодовых тканей, своеобразной иммунологической толерантности иммунной системы матери к плоду, выработавшейся в процессе эволюции. Несомненно, что ключевую роль в материнско-фетальных взаимоотношениях занимают клеточные популяции плаценты [2,6].

Плодовые клетки трофобласта, контактирующие с тканями организма матери, дифференцируются в различные популяции клеток трофобласта, выполняют разнообразные функции при развитии плаценты, в том числе и при самом интенсивном, можно сказать, тотальном, воздействии цитокинов, в избытке присутствующих при беременности в децидуальной оболочке и плаценте. При патологии беременности, наблюдается локальное нарушение функционирования клеток трофобласта, в частности, дисбаланс уровня цитокинов, однако эта область знаний остается всё еще недостаточно изученной [24].

На фоне *преэклампсии* (ПЭ) наблюдаются изменения популяционного состава макрофагов плаценты, изменение их секреторной и функциональной активности. Механизмы межклеточных взаимодействий при этом остаются практически не изученными.

ПЭ осложняет течение от 2 до 8% всех беременностей. Каждый год в мире регистрируется 8,5 миллионов случаев ПЭ, а в структуре материнской смертности ПЭ и ее осложнения ежегодно занимают II-IV место [1,23]. В России с 2014 года ПЭ является второй по распространенности причиной материнской смертности, уступая только экстрагенитальной патологии. В связи с этим представляется достаточно важным определение клинически достоверных предикторов преэклампсии, особенно на ранней стадии беременности [14-18,29].

Следует отметить, что чрезвычайно любопытным представляется процесс секреции плацентарными макрофагами цитокинов, как с точки зрения морфологии, так и клиники [26]. Макрофаги являются второй по числу клеток популяцией белого ростка в децидуальной оболочке. Их доля составляет более 20% [31]. Локализуясь в области базальной пластинки децидуальной оболочки, они находятся в тесной связи с инвазивным трофобластом. Кроме этого, в большом количестве макрофаги выявляются и в париетальной оболочке в области расположения трофобласта гладкого хориона. В течение всей беременности число макрофагов остается постоянным, хотя их свойства изменяются в зависимости от периода беременности.

Для исследователей определённый интерес представляет модуляция морфологии плацентарных макрофагов и кореллирующая с ним динамика изменения уровня цитокинов, что может быть использовано для предикации гестоза.

Одним из таких предикторов является изменение уровня *VEGF* (фактора роста эндотелия сосудов) [11,24].

Различные популяции клеток трофобласта продуцируют цитокины: в частности, количество *фактора роста эндотелия сосудов* (*VEGF*) и *растворимой формы его рецептора* (*sVEGFR1*), осуществляющих ауто- и паракринную регуляцию инвазии трофобласта, на 50-60% зависит от его секреции плацентарными макрофагами [24,28].

VEGF-A и *VEGF-C*, секретируемые плацентарными макрофагами, стимулируют пролиферацию трофобласта и повышают его устойчивость к цитотоксичности *NK*-клеток. Надо также отметить, что при гестозе в плаценте отмечается сниженная экспрессия *sVEGFR1* [12,28,30,33].

Усиление экспрессии цитокинов клетками трофобласта при гестозе обеспечивает миграцию лейкоцитов матери в плаценту. Вследствие этого развитие гестоза характеризуется местным воспалением с участием плацентарных макрофагов в плаценте. Наблюдается повышенный уровень депонирования фибрина в плаценте при участии макрофагов и скоплении их вокруг спиральных артерий матки [33].

При оценке роли *VEGF-A* и *VEGF-C* при гестозе определяется не только содержание этих цитокинов, но и уровни соответствующих растворимых рецепторов. Проведение лабораторного контроля показателей морфогенеза плаценты через определение уровня *VEGFR1* во время беременности позволяет получить прогноз вероят-

ности развития преэклампсии [11,24].

MORPHOFUNCTIONAL PECULIARITIES OF PLACENTES IN ACCURACY AND SOMATIC PATHOLOGY (literature review)

Z.A. VORONTSOVA, O.D. ZHILYAEVA, A.S. GUREEV

Voronezh State N. N. Burdenko Medical University of the Ministry of health of Russia, Studencheskaya Str., 10, Voronezh, 394036, Russia

Abstract. In the conditions of the existing demographic crisis, the preservation and strengthening of the reproductive health of women is an important general medical and social task. Histological and physiological features of the placenta are a universal indicator of the fetal condition, course and outcome of pregnancy, so it is important to further study the functional state of the placenta, the mechanisms of formation of pathological changes in it. Numerous studies have established a number of physical, chemical, and biological factors that influence the formation of abnormalities in the mother-placenta-fetus system. Until now, there is no consensus on the biological model of pregnancy as a phenomenon of the intimate existence of two genetically alien organisms. For a long time, the relationship between the mother and the fetus was viewed as potentially "hostile" - the fruit as a seven-allotransplant, antigenically alien, "avoiding", due to various tweaks, direct conflict with the mother's body. During the last decade there was a stable opinion about the existence of a "partnership" of maternal and fetal tissues, a kind of immunological tolerance of the mother's immune system to the fetus that was developed in the course of evolution. There is no doubt that a significant role in maternal and fetal relationships is occupied by cellular placenta populations, as well as mechanisms for regulating these relationships mediated by cytokines and various groups of growth factors. The article presents modern representations of the features of the placenta structure in obstetric and somatic pathology.

Key words: placenta, miscarriage, preeclampsia, iron-deficiency anemia.

Литература

1. Айламазян Э.К. Акушерство // Учебник для медицинских вузов. СПб.: СпецЛит, 2007. 528 с.

2. Айламазян Э.К., Полякова В.О., Кветной И.М. Функциональная морфология плаценты человека в норме и патологии. СПб.: Изд-во Н-Л, 2012. 176 с.

3. Гребнева О.С., Зильбер М.Ю., Берлит О.Г. Морфологическая характеристика плацент после преждевременной отслойки // Фундаментальные исследования. 2014. № 10-10. С. 1918–1923.

4. Гребнева О.С., Зильбер М.Ю. Особенности субпопуляционного состава иммуннокомпетентных клеток плацент после преждевременной отслойки // Пермский медицинский журнал. 2015. Т.1, № 1. С. 12–18.

5. Жиляева О.Д., Шевц Б.Р., Вендин В.В., Сараев А.Л. Структура патологических изменений пла-

References

1. Ajlamazyan EHK. Akusherstvo. Uchebnik dlya medicinskikh vuzov [Obstetrics. Textbook for medical schools]. SPb.: SpecLit; 2007. Russian.

2. Ajlamazyan EHK, Polyakova VO, Kvetnoj IM. Funkcional'naya morfologiya placenty cheloveka v norme i patologii [Functional morphology of human placenta in normal and pathological conditions]. SPb.: Izd-vo N-L; 2012. Russian.

3. Grebneva OS, Zil'ber MYU, Berlit OG. Morfologicheskaya kharakteristika placent posle prezhdevremennoj otslojki [Morphological characteristics of placenta after premature detachment]. Fundamental'nye issledovaniya. 2014;10-10:1918-23. Russian.

4. Grebneva OS, Zil'ber MYU. Osobennosti subpopulyacionnogo sostava immunnokompetentnykh kletok placent posle prezhdevremennoj otslojki [Features of the subpopulation composition of immune cells of the placenta after premature detachment]. Permskij medicinskij zhurnal. 2015;1(1):12-8. Russian.

5. ZHilyaeva OD, SHevc BR, Vendin VV, Saraev AL. Struktura patologicheskikh izmenenij placenty pri

центы при анемиях беременных // Новые лечебно-диагностические технологии в медицине: сборник научных трудов и практических работ. Старый Оскол, 2002. С. 166–167.

anemiyakh beremennykh. Novye lechebno-diagnosticheskie tekhnologii v medicine: sbornik nauchnykh trudov i prakticheskikh rabot [The structure of pathological changes in the placenta in anemia of pregnant women. New diagnostic and treatment technologies in medicine: collection of scientific works and practical works]. Staryj Oskol; 2002. Russian.

6. Зубжицкая Л.Б., Кошелева Н.Г., Семенов В.В. Иммуноморфологическое состояние плаценты при акушерской патологии / под редакцией Э.К. Айламазяна. СПб.: Нордмедиздат, 2005. 304 с.

6. Zubzhickaya LB, Kosheleva NG, Semenov VV. Immunomorfologicheskoe sostoyanie placenty pri akusherskoj patologii. pod redakciej EH.K. Ajlamazyana [Subsectimeoriginal the condition of the placenta in obstetric pathology. edited By E. K. Ailamazyan]. SPb.: Nordmedizdat; 2005. Russian.

7. Краснопольский В.И. Формирование и патология плаценты. М.: ОАО Издательство «Медицина», 2007. 112 с.

7. Krasnopol'skij VI. Formirovanie i patologiya placenty [Formation and pathology of the placenta]. Moscow: OAO Izdatel'stvo «Medicina»; 2007. Russian.

8. Линькова Н.С., Костылев А.В., Костючек И.Н., Полякова В.О. Экспрессия CD8 как маркера риска невынашивания беременности у женщин с гестозом // Вестник РУДН. Серия медицина. Акушерство и гинекология. 2009. №6. С. 326–331.

8. Lin'kova NSKostylev AV, Kostyuchek IN, Polyakova VO. EHkspressiya SD8 kak markera riska nevynashivaniya beremennosti u zhenshchin s gestozom [Expression of CD8 as a marker of risk of miscarriage in women with gestosis]. Vestnik RUDN. Seriya medicina. Akusherstvo i ginekologiya. 2009;6:326-31. Russian.

9. Логутова Л.С., Ахвледиани К.Н., Петрухин В.А., Мельников А.П., Башахин Н.Ф., Жиляева Н.Ф., Коваленко Т.С., Магилевская Е.В. Профилактика фотоплацентарной недостаточности и перинатальных осложнений у беременных с железодефицитной анемией // Российский вестник акушера-гинеколога. 2009. Т. 9, №5. С. 72–77.

9. Logutova LS, Akhvlediani KN, Petrukhin VA, Mel'nikov AP, Bashakhin NF, ZHilyaeva NF, Kovalenko TS, Magilevskaya EV. Profilaktika fotoplacentarnoj nedostatochnosti i perinatal'nykh oslozhnenij u beremennykh s zhelezodeficitnoj anemiej [Prevention fetoplatzentarnyi failure and perinatal complications in pregnant women with iron deficiency anemia]. Rossijskij vestnik akushera-ginekologa. 2009;9(5):72-7. Russian.

10. Муминова З.А., Саиджалилова Д.Д., Нишанов Д.А. Морфологическая характеристика плацент женщин, перенесших острые респираторные инфекции // Журнал теоретической и клинической медицины. 2016. №3. С. 148–150.

10. Muminova ZA, Saidzhalilova DD, Nishanov DA. Morfologicheskaya kharakteristika placent zhenshchin, perenesshikh ostrye respiratornye infekcii [Morphological characteristics of placenta of women with acute respiratory infections]. ZHurnal teoreticheskoj i klinicheskoj mediciny. 2016;3:148-50. Russian.

11. Павлов О.В., Шевелева О.В., Сельков С.А. Экспрессия васкулоэндотелиального ростового фактора и его рецепторов плацентарными макрофагами in vitro // Бюлл. экспер. биол. и мед. 2012. Т. 153, № 2. С. 188–192.

11. Pavlov OV, SHeveleva OV, Sel'kov SA. EHkspressiya vaskuloehndotelial'nogo rostovogo faktora i ego receptorov placentarnymi makrofagami in vitro [Expression of vasculoendothelial growth factor and its receptors by placental macrophages in vitro]. Byull. ehksper. biol. i med. 2012;153(2):188-92. Russian.

12. Павлов О.В. Роль плацентарных макрофагов в регуляции развития и функционирования плаценты // Ж. акушерства и женских болезней. 2012. Т. 61, № 2. С. 82–91.

12. Pavlov OV. Rol' placentarnykh makrofagov v regulyacii razvitiya i funkcionirovaniya placenty [The role of placental macrophages in the regulation of placental development and functioning]. ZH.akusherstva i zhenskikh boleznej. 2012;61(2):82-

13. Павлова Т.В., Петрухин В.А., Жиляева О.Д. Морфология плаценты при беременности на фоне железодефицитной анемииб // Архив патологии. 2007. Т. 69, №2. С. 31–32.

14. Паньшина М.В. Прогнозирование и немедикаментозная профилактика преэклампсии: дисс. к.м.н. Москва: Федеральное государственное учреждение Федеральный медицинский биофизический центр, 2013.

15. Паньшина М.В. Технология немедикаментозной профилактики преэклампсии // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 2-19.. URL: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4320.pdf (дата обращения 19.02.2013).

16. Паньшина М.В., Волков В.Г., Хадарцева К.А. Опыт профилактики гестоза // Вестник новых медицинских технологий. 2010. №4. С. 141–142.

17. Паньшина М.В., Силаева Е.Б., Раннева Л.К. Возможности диагностики и совместного применения немедикаментозных способов профилактики и реабилитации преэклампсии (научный обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 2-139. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4557.pdf (дата обращения 15.10.2013)

18. Паньшина М.В., Хадарцева К.А. Прогнозирование и немедикаментозная профилактика преэклампсии. Saarbrucken, 2015.

19. Полякова В.О., Линькова Н.С., Костылев А.В. Иммуногистохимические маркеры в оценке функционального состояния плаценты // Введение в молекулярную диагностику. Т. 1. Белки-маркеры в современной клинической диагностике. М.: Медицина, 2010. С. 318–344.

20. Сеидбекова Ф.О. Гистохимическая характеристика плацент родильниц, родивших новорожденных с врожденными пороками развития // Мир медицины и биологии. 2012. Т.8, №1. С. 150–154.

91. Russian.

13. Pavlova TV, Petrukhin VA, ZHilyaeva OD. Morfologiya placenty pri beremennosti na fone zhelezodeficitnoj anemiib [Placental morphology during pregnancy against the background of iron deficiency anemia]. Arkhiv patologii. 2007;69(2):31-2. Russian.

14. Pan'shina MV. Prognozirovanie i nemedikamentoznaya profilaktika preeklampsii [dissertation] Moscow (Moscow region): Federal'noe gosudarstvennoe uchrezhdenie Federal'nyy meditsinskiy biofizicheskiy tsentr; 2013 Russian.

15. Pan'shina MV. Tekhnologiya nemedikamentoznoj profilaktiki preehklampsii [Technology of non-drug prevention of preeclampsia]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. EHlektronnoe izdanie [internet]. 2013[cited 2013 Feb 19];1[about 5 p.]. Russian. Available from: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4320.pdf

16. Pan'shina MV, Volkov VG, KHadarceva KA. Opyt profilaktiki gestoza [Practices in prevention of preeclampsia]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. 2010;4:141-2. Russian.

17. Pan'shina MV, Silaeva EB, Ranneva LK. Vozmozhnosti diagnostiki i sovmestnogo primeneniya nemedikamentoznykh sposobov profilaktiki i reabilitacii preehklampsii (nauchnyj obzor literatury) [Possibilities of diagnosis and joint application of non-drug methods of prevention and rehabilitation of preeclampsia (scientific review of the literature)]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. EHlektronnoe izdanie [internet]. 2013[cited 2013 Oct 15];1[about 5 p.]. Russian. Available from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4557.pdf

18. Pan'shina MV, KHadarceva KA. Prognozirovanie i nemedikamentoznaya profilaktika preehklampsii [Prediction and non-drug prevention of preeclampsia]. Saarbrucken; 2015. Russian.

19. Polyakova VO, Lin'kova NS, Kostylev AV. Immunogistokhimicheskie markery v ocenke funkcional'nogo sostoyaniya placenty. Vvedenie v molekulyarnuyu diagnostiku. T. 1. Belki-markery v sovremennoj klinicheskoj diagnostike [Immunohistochemical markers in the evaluation of the functional state of the placenta. Introduction to molecular diagnostics. Vol.1. Protein markers in modern clinical diagnosis]. Moscow: Medicina; 2010. Russian.

20. Seidbekova FO. Gistokhimicheskaya kharakteristika placent rodil'nic, rodivshikh novorozhdennykh s vrozhdennymi porokami razvitiya [Histochemical characteristics of placenta of postpartum women who

gave birth to newborns with congenital malformations]. Mir mediciny i biologii. 2012;8(1):150-4. Russian.

21. Сеидбекова Ф.О. Микрометрическая характеристика ворсинкового дерева плацент родильниц, родивших детей с пороками развития // Вестник российской академии медицинских наук. 2013. №8. С. 20–23.

21. Seidbekova FO. Mikrometricheskaya kharakteristika vorsinkovogo dereva placent rodil'nic, rodivshikh detej s porokami razvitiya [Micrometric characteristic marcinkevage tree placentas postpartum women who have given birth to children with malformations]. Vestnik rossijskoj akademii medicinskikh nauk. 2013;8:20-3. Russian.

22. Сейталин И.А., Бандурин Ф.А., Карамамуд-Оглы Д., Сейталин Т.А. Особенность плацент при преждевременных родах // Достижения вузовской науки. 2012. №1. С. 71–75.

22. Sejtalin IA, Bandurin FA, Karamamud-Ogly D, Sejtalin TA. Osobennost' placent pri prezhdevremennykh rodakh [Feature placenta in preterm birth]. Dostizheniya vuzovskoj nauki. 2012;1:71-5. Russian.

23. Сидорова И.С., Милованов А.П., Никитина Н.А., Рзаева А.А. Патоморфологические особенности повреждений головного мозга при преэклампсии и эклампсии // Ж. Акушерство и гинекология. 2014. N 3. С. 44–48.

23. Sidorova IS, Milovanov AP, Nikitina NA, Rzaeva AA. Patomorfologicheskie osobennosti povrezhdenij golovnogo mozga pri preehklampsii i ehklampsii [Pathomorphological features of brain damage in preeclampsia and eclampsia]. ZH. Akusherstvo i ginekologiya. 2014;3:44-8. Russian.

24. Соколов Д.И., Сельков С.А. Иммунологический контроль формирования сосудистой сети плаценты. СПб.: Издательство Н-Л, 2012. 206 с.

24. Sokolov DI, Sel'kov SA. Immunologicheskij kontrol' formirovaniya sosudistoj seti placenty [Immunological control of the formation of the vascular network of the placenta]. SPb.: Izdatel'stvo N-L; 2012. Russian.

25. Стяжкина С.Н., Черненкова М.Л., Абдуллина И.Р., Муллахметова Л.М., Омелина Л.М. Состояние плацент при гестационном пиелонефрите // Современные проблемы науки и образования. 2015. №1. С. 13–29.

25. Styazhkina SN, CHernenkova ML, Abdullina IR, Mullakhmetova LM, Omelina LM. Sostoyanie placent pri gestacionnom pielonefrite [The state of the placentae in gestational pyelonephritis]. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015;1:13-29. Russian.

26. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров А.А., Бондарь С.С. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-57. URL: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/ Bulletin/E2015-1/4815.pdf (дата обращения 30.06.2014). DOI: 10.12737/5025.

26. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov AA, Bondar' SS. Produktsiya tsitokinov kletkami tsel'noy krovi rekonvalestsentov vnebol'-nichnoy pnevmonii pod vliyaniem nizkoin-tensivnogo SVCh-oblucheniya [Production of cytokines by whole blood cells of convalescents of community-acquired pneumonia under the influence of low-intensity microwave radiation]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2014[cited 2014 Jun 30];1[about 5 p.]. Russian. Available from: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/ Bulle-tin/E2015-1/4815.pdf. DOI: 10.12737/5025

27. Умарбаева Д.А., Далбаева Б.Ж., Иманказиева Ф.И. Оценка патоморфологаческих изменений последов при врожденных пороках развития // Медицина Кыргызстана. 2011. № 3. С. 48–51.

27. Umarbaeva DA, Dalbaeva BZH, Imankazieva FI. Ocenka patomorfologacheskikh izmenenij posledov pri vrozhdennykh porokakh razvitiya [Assessment patomorfologachesky changes of placenta in congenital malformations]. Medicina Kyrgyzstana. 2011;3:48-51. Russian.

28. Умарбаева Д.А., Карамышева А.В., Иманказиева Ф.И. Системный гистоинформационый анализ

28. Umarbaeva DA, Karamysheva AB, Imankazieva FI. Sistemnyj gistoinformacionyj analiz placent plo-

плацент плодов с врожденными пороками развития // Вестник Кыргызско-Российского Славянского Университета. 2011. Т.11, № 12. С. 150–153.

dov s vrozhdennymi porokami razvitiya [System disconfirmatory analysis of placentas of fetuses with congenital malformations]. Vestnik Kyrgyzsko-Rossijskogo Slavyanskogo Universiteta. 2011;11(2):150-3. Russian.

29. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Волков В.Г., Хадарцева К.А., Карасева Ю.В., Хромушин В.А., Гранатович Н.Н., Гусак Ю.К., Чуксеева Ю.В., Паньшина М.В. Медико-биологические аспекты реабилитационно-восстановительных технологий в акушерстве: монография / Под ред. Хадарцевой К.А. Тула: ООО «Тульский полиграфист», 2013. 222 с.

29. KHadarcev AA, Morozov VN, Volkov VG, KHadarceva KA, Karaseva YUV, KHromushin VA, Granatovich NN, Gusak YUK, CHukseeva YUV, Pan'shina MV. Mediko-biologicheskie aspekty reabilitacionno-vosstanovitel'nykh tekhnologij v akusherstve: monografiya [Medical and biological aspects of rehabilitation and rehabilitation technologies in obstetrics: monograph]. Pod red. KHadarcevoj K.A. Tula: OOO «Tul'skij poligrafist»; 2013. Russian.

30. Ferretti C., Bruni L., Dangles-Marie V., Pecking A.P., Bellet D. Molecular circuits shared by placental and ca ncer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts // Hum Reprod Update. 2007. Vol. 13, № 2. P. 121–141.

30. Ferretti C, Bruni L, Dangles-Marie V, Pecking AP, Bellet D. Molecular circuits shared by placental and ca ncer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. Hum Reprod Update. 2007;13(2):121-41.

31. Gomez-Lopez N., Guilbert L.J., Olson D.M. In vasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy // J Leukoc Biol. 2010. Vol. 88, № 4. P. 625–633.

31. Gomez-Lopez N, Guilbert LJ, Olson DM. In vasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy. J Leukoc Biol. 2010;88(4):625-33.

32. Schiessl B., Innes B.A., Bulmer J.N., Otun H.A., Chadwick T.J., Robson S.C. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human placental bed throughout normal human pregnancy // Placenta. 2009. Vol. 30, №1. P. 79–87.

32. Schiessl B, Innes BA, Bulmer JN, Otun HA, Chadwick TJ, Robson SC. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human placental bed throughout normal human pregnancy. Placenta. 2009;30(1):79-87.

33. Wallace A.E., Fraser R., Cartwright J.E. Extravillous trophoblast and decidual natural killer cells: a remodeling partnership // Hum. Reprod. Update. 2012. Vol. 18, №4. P. 458–471.

33. Wallace AE, Fraser R, Cartwright JE. Extravillous trophoblast and decidual natural killer cells: a remodeling partnership. Hum. Reprod. Update. 2012;18(4):458-71.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 44–48
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 44–48

УДК: 618.4-089-018.5 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16148

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ГЕМАТОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В ОРГАНИЗМЕ ЖЕНЩИН ПРИ ОПЕРАТИВНОМ РОДОРАЗРЕШЕНИИ

З.А. ВОРОНЦОВА, Н.А. ЗАМЯТИНА

ФГБОУ ПО Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая 10, г. Воронеж, 394036, Россия, e-mail: z.vorontsova@mail.ru

Аннотация. Одним из показателей качественной деятельности учреждений здравоохранения по оказанию акушерской помощи населению является материнская смертность, среди основных причин которой являются кровотечения. Изменение микрореологических свойств крови при острой кровопотере в конечном итоге приводит к развитию гипоксии осложняющейся в последствии необратимыми процессами или трудно восстановимыми. Методы интраоперационной реинфузии крови при кровотечениях являются важным путем в решении данной проблемы, реализующейся с помощью применения аппарата *Cell-Saver5*. Отделение эритроцитов от плазмы осуществляется при центрифугировании крови смешанной с антикоагулянтом, что позволяет провести количественный анализ для выявления глобулярного объема крови и улучшить ее качественные характеристики. Были установлены оптические различия фации эритроцитарной взвеси в условиях применения аппарата *Cell-Saver* и без его использования. По архитектонике маркерных образований в фациях была выявлена картина нарушений, которая являлась диагностическим критерием застойных явлений в организме или указывала на высокое напряжение функциональных систем и защитных механизмов или метаболических нарушений. Необходимо отметить, что проведенный анализ констатировал улучшение исследуемых параметров при обработке крови аппаратом *Cell-Saver*. Был показан положительный эффект, приближающий показатели к нормализации эритроцитарной взвеси на фоне сработавших защитных механизмов, определивших направленность к восстановлению гомеостаза.

Ключевые слова: гемореология, эритроциты, аутогемотрансфузия, кесарево сечение, *Cell-Saver*.

Актуальность. Операция кесарево сечение по данным Минздрава РФ за последние десятилетия имеет тенденцию к росту и составляет около 25% всех родов. Оптимальная частота этой операции по данным ВОЗ считается 10-15%. Несмотря на кажущуюся техническую простоту, данную операцию следует оценивать как сложное оперативное вмешательство [8]. Ведущим осложнением операции кесарева сечения является кровотечение, частота которого возрастает при наличии предыдущего кесарева сечения, анемии, патологии плаценты [1,9].

В патогенезе острой кровопотери одним из важных факторов является изменение микрореологических свойств крови, последствиями которых являются: снижение доступности кислорода тканям, нарушения в системе гемостаза, стимуляция воспалительного ответа, что в конечном итоге приводит к развитию гипоксии. От выраженности и длительности этих процессов зависит вероятность возникновения гнойно-септических осложнений, полиорганной недостаточности, тромботических осложнений, развитие рефрактерного шока и летальность в посттравматическом периоде.

Важным путем решения проблемы кровотечения в акушерстве является метод интраоперационной реинфузии крови. В нашей практике мы используем аппаратную реинфузию при помощи *Cell-Saver5+(Haemonetics)* и наборы одноразовых магистралей. Кровь собирается при помощи аспиратора, смешивается с антикоагулянтом, подается через фильтр в резервуар. Центрифугирование и отделение эритроцитов от плазмы происходит в центрифуге и основано на разнице в плотности клеточных элементов.

В настоящее время при кровопотере учитывается количественный анализ утраченных эритроцитов или утерянный *глобулярный объем* (ГО) крови – дефицит ГО. Морфофункциональное состояние эритроцитов играет большую роль в клинической практике [3]. Способность аппарата реинфузии *Cell-Saver5+(Haemonetics)* улучшать качественные характеристики крови обеспечивает его актуальность применения и обоснованность в решении проблемы кровотечений [7].

Микроскопия фаций эритроцитарной взвеси

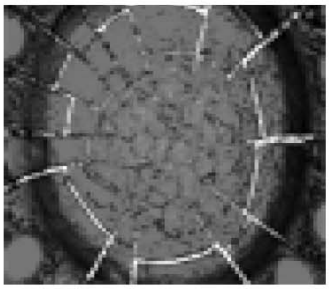


Рис. 1. До применения аппарата *Cell-Sever*

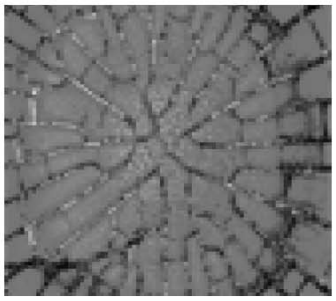


Рис. 2. После применения аппарата *Cell-Sever*

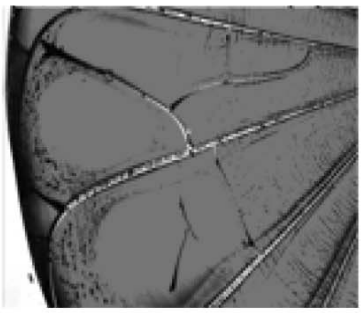


Рис. 3. Трещины со слепым концом - маркер интоксикационного процесса метаболических

Рис. 4. Дихотомия трещин-маркер глубоких нарушений

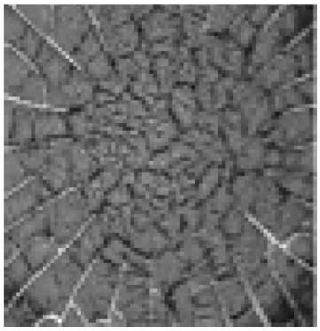


Рис. 5. Трёхлучевые трещины-маркер застойных явлений в организме

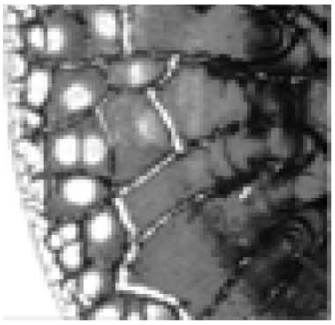


Рис.6.

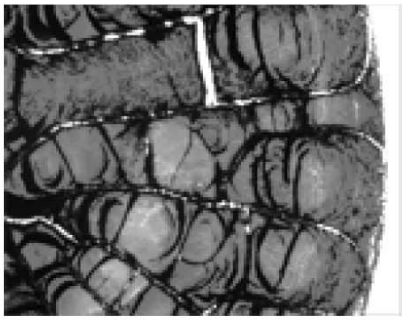


Рис. 7.

Воронкообразные трещины – маркер высокого напряжения функциональных систем и защитных механизмов

Цель исследования – оценить качественные параметры эритроцитов в мазках крови и морфологические изменения фации (высушенной капли биологической жидкости) до и после аппарата *Cell-Saver* для реинфузии.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на базе Воронежской областной клинической больницы Перинатального центра и лаборатории кафедры гистологии Воронежского государственого медицинского университета. Было обследовано 20 пациенток в возрасте 24-46 лет, которые перенесли операцию кесарево сечение. Кровопотеря в среднем составила 2300±148 мл. По ходу операции проводилась аутогемотрансфузия при помощи аппарата для реинфузии *Cell-Saver*. Учет кровопотери проводился при помощи гравиметрического метода (взвешивание операционного белья и материала) и крови, собранной при помощи аппарата *Cell-Saver*. Возврат эритроцитарной взвеси в среднем составил 801.3±58.2 мл. Кровь для анализа забирали из бедренной вены пациенток и из аппарата *Cell-Saver*. Все женщины выписаны домой в удовлетворительном состоянии и с жизнеспособными детьми.

Оценка морфометрических параметров эритроцитов была проведена в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, с последующим исследованием в аппаратно-програмном комплексе ВидеоТест-Морфология, включающим в себя микроскоп, систему ввода изображений, компьютер и программное обеспечение.

Среднее содержание *гемоглобина в эритроцитах* (*MCH*) было определено с помощью автоматического гемоанализатора фирмы *ERMA INC. MODEL PCE-210*, (Япония, 2009 года выпуска).

В целях изучения морфологических изменений фации использовали световой микроскоп фирмы *BIOLAR PI* и цифровой камеры *Levenhuk* серии *C*. Полученное с помощью камеры изображение передавалось на экран в реальном цвете.

Результаты и их обсуждение. Распределение эритроцитов на классы по диаметру в мазках крови, взятой из бедренной вены показало: микроциты с диаметром 5.5-5.9 составили 3.7%; 5.9-6.4 – 27.2%; 6.6-6.8 – 29.4%; нормоциты с диаметром 6.8-7.3 – 24.5%; 7.3-8.2 – 14.8%; макроциты с диаметром больше 8.2 отсутствуют. Общее число микроцитов с диаметром 5.5-6.8 составляет 60.5%; нормоцитов с диаметром 6.8-8.2 – 39.5%.

Распределение эритроцитов на классы по диаметру после обработки через аппарат *Cell-Saver*: микроциты с диаметром 5.5-5.9 составили 5.9%; 5.9-6.4 – 25.5%; 6.6-6.8 – 20.7%; нормоциты с диаметром 6.8-7.3 – 32.6%; 7.3-8.2 – 14.5%; макроциты с диаметром 8.2-8.6 – 0.5%; 8.6-9.1 – 0.12%. Общее число микроцитов с диаметром 5.5-6.8 составляет 52.21%, нормоцитов с диаметром 6.8-8.2 – 47.15%, макроцитов с диаметром 8.2-9.5 – 0.64%.

Среднее содержания *MCH* крови, взятой из вены, составило 26-36 пикограммов. После обработки эритроцитов аппаратом *Cell-Saver* наблюдалось возрастание *MCH*, что определяло их повышенную способность к переносу кислорода.

Установлено, что микроскопическая картина фаций эритроцитарной взвеси до и после обработки аппаратом *Cell-Saver* различались [2] (рис.1,2). В фациях до выявлялись трещины со слепым концом как маркер интоксикационного процесса (рис. 3); дихотомия трещин как маркер глубоких метаболических нарушений (рис. 4); морщины, указывающие на повышение в крови белково-пептидных агентов; трехлучевые трещины – маркер застойных явлений в организме (рис. 5); воронкообразные трещины, указывающие на высокое напряжение функциональных систем и защитных механизмов (рис. 6,7). При микроскопии фации эритроцитарной массы после обработки аппаратом Cell-Saver во всех случаях отмечено наличие воронкообразных трещин, как маркера высокого напряжения функциональных систем и защитных механизмов; также наличие трехлучевые трещины – маркер застойных явлений в организме; дихотомия трещин как маркер глубоких метаболических нарушений; трещины со слепым концом как маркер интоксикационного процесса. воронкообразные трещины, как маркер высокого напряжения функциональных систем и защитных механизмов [4-6].

Таким образом, проведенный анализ качественных характеристик эритроцитов констатировал улучшения их параметров после обработки крови аппаратом *Cell-Saver* по сравнению с неаппаратной фракцией. Так, количество микроцитов уменьшилось на 14%, а нормоциты увеличились на 17%, а также возросло среднее содержание гемоглобина, что определяет повышение способности эритроцитов к переносу кислорода. Наблюдаемый сдвиг в сторону нормализации системной структуры эритроцитарной взвеси при исследовании морфологиче-

ских изменений фации (увеличение количества отдельностей, конкреций) также характеризует положительный эффект аппарата *Cell-Saver* на фоне напряжения функциональных систем и защитных механизмов.

Выводы. Использование аппарата *Cell-Saver* для аутогемотранфузии при оперативном родоразрешении путем кесарева сечения, позволило приблизить морфологические параметры гематореологических свойств крови к нормальным показателям, определившим сохранность гемостаза.

MORPHOLOGICAL CRITERIA OF THE HEMATORHEOLOGICAL PROPERTIES OF THE BLOOD IN THE ORGANISM OF WOMEN AT THE OPERATIONAL RELEASE

Z.A. VORONTSOVA, N.A. ZAMYATIN

"Voronezh State Burdenko Medical University", Studencheskaya Str., 10, Voronezh, 394036, Russia, e-mail: z.vorontsova@mail.ru

Abstract. One of the indicators of the qualitative activity of health facilities in providing obstetric care to the population is maternal mortality, among the main causes of which are bleeding. The change in microrheological properties of blood in acute blood loss ultimately leads to the development of hypoxia complicated by subsequent irreversible processes or difficult to recover. Methods of intraoperative blood reinfusion during bleeding are an important way to solve this problem, which is realized by using the Cell-Saver5 device. The separation of erythrocytes from plasma is carried out by centrifugation of blood mixed with an anticoagulant, which allows for a quantitative analysis to detect the globular volume of blood and improve its qualitative characteristics. Optical differences in the facies of the erythrocyte suspension were established in conditions of using the Cell-Saver apparatus and without its use. According to the architectonics of marker formations in facies, a picture of disturbances was revealed which was a diagnostic criterion of stagnant phenomena in the body or indicated a high stress of functional systems and protective mechanisms or metabolic disturbances. It should be noted that the analysis revealed an improvement in the parameters under study when treating the blood with a Cell-Saver apparatus. A positive effect was shown that approximates the indices for the normalization of erythrocyte suspension against the background of the protective mechanisms that worked, which determined the direction to restore homeostasis.

Key words: hemorheology, erythrocytes, autohemotransfusion, Caesarean section, Cell-Saver.

Литература

1. Алиева А.Я. Структура показаний к операции кесарево сечение // Бюллетень медицинских интернет - конференций. 2014. Т. 4., № 5. С. 448.

2. Замятина Н.А., Воронцова З.А. Некоторые индивидуальные особенности осложнений периода беременности и послеродовых состояний // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №4. Публикация 2-18. URL: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/ E2017-4/2-18.pdf (дата обращения 04.12.2017). DOI: 10.12737/article_5a321318e46679.86701603.

3. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты // Успехи физиологических наук. 2001. Т. 32, № 3. С. 66–78.

4. Иванов Д.В., Хадарцев А.А. Клеточные техно-

References

1. Alieva AYA. Struktura pokazanij k operacii kesarevo sechenie [The structure of indications to cesarean section]. Byulleten' medicinskikh inter-net - konferencij. 2014;4(5):448. Russian.

2. Zamyatina NA, Voroncova ZA. Nekotorye individual'nye osobennosti oslozhnenij perioda beremennosti i poslerodovykh sostoyanij [Some individual characteristics of complications of pregnancy and postpartum states]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. EHlektronnoe izdanie [internet]. 2017[ciited 2017 Dec 04];4[about 4 p.]. Russian. Available from: http://www.medtsu.tula.ru/ VNMT/Bulletin/E2017-4/2-18.pdf. DOI: 10.12737/article_5a321318e46679.86701603.

3. Zinchuk VV. Deformiruemost' ehritrocitov: fiziologicheskie aspekty [Deformability of erythrocytes: physiological aspects]. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2001;32(3):66-78. Russian.

4. Ivanov DV, KHadarcev AA. Kletochnye tekhnolo-

логии в восстановительной медицине: Монография / Под ред. А.Н. Лищука. Тула: Тульский полиграфист, 2011. 180 с.

5. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А. Тезиография крови и биологических жидкостей / Под ред. А.А. Хадарцева. Тула: Тульский полиграфист, 2009. 244 с.

6. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Якушина Г.Н. Саногенез и саногенные реакции эритрона. Проблемы медицины и общее представление о саногенезе // Вестник новых медицинских технологий. 2005. № 3–4. С. 5–9.

7. Струк Ю.В., Замятина Н.А., Якушева О.А., Чайкина Н.Н. Микрореологические свойства эритроцитов после аппаратной обработки // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2016. № 65. С. 200–220.

8. Maswime S., Buchmann E.J. Why women bleed and how they are saved: a cross-sectional study of caesarean section near-miss morbidity // BMC Pregnancy Childbirth. 2017. Vol. 17, №1. P. 15.

9. Stanković B., Stojanović G. Chemjtherapy Analisys in massive transfusion syndrome // Med Pregl. 2016. Vol. 69, №1-2. P. 37–43.

gii v vosstanovitel'noj medicine: Monografiya. Pod red. A.N. Lishchuka [Cellular technologies in regenerative medicine: Monograph. Ed. A. N. Lishchuk]. Tula: Tul'skij poligrafist; 2011. Russian.

5. Kidalov VN, KHadarcev AA. Teziografiya krovi i biologicheskikh zhidkostej. Pod red. A.A. KHadarceva [Designate blood and biological liquids. Under the editorship of A. A. Khadartsev]. Tula: Tul'skij poligrafist; 2009. Russian.

6. Kidalov VN, KHadarcev AA, YAkushina GN. Sanogenez i sanogennye reakcii ehritrona. Problemy mediciny i obshchee predstavlenie o sanogeneze [Sanogenesis and sanogenic reactions of erythron. Problems of medicine and General understanding of sanogenesis]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. 2005;3–4:5–9. Russian.

7. Struk YUV, Zamyatina NA, YAkusheva OA, CHajkina NN. Mikroreologicheskie svojstva ehritrocitov posle apparatnoj obrabotki [Microrheological properties of erythrocytes after hardware processing]. Nauchno-medicinskij vestnik Central'nogo CHernozem'ya. 2016;65:200-20. Russian.

8. Maswime S, Buchmann EJ. Why women bleed and how they are saved: a cross-sectional study of caesarean section near-miss morbidity. BMC Pregnancy Childbirth. 2017;17(1):15.

9. Stanković B, Stojanović G. Chemjtherapy Analisys in massive transfusion syndrome. Med Pregl. 2016;69(1-2):37-43.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 49–57
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 49–57

Раздел II

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ (14.03.00)

Section II

MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES (14.03.00)

УДК: 612.821 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16046

ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ Θ-РИТМА ЭЭГ ЧЕЛОВЕКА И ВРЕМЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ЗРИТЕЛЬНО-МОТОРНЫХ ЗАДАЧ

Н.А. КАРАТЫГИН, И.И. КОРОБЕЙНИКОВА

ФГБНУ « Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», ул. Балтийская, д. 8, г. Москва, 125315, Россия

Аннотация. У испытуемых (*n*=38, мужчины 20-21 года), регистрировали ЭЭГ по стандартной схеме при выполнении зрительно-моторных задач (компьютеризированный вариант теста Горбова-Шульте). Характеристики ЭЭГ анализировали в соответствии с этапами целенаправленной деятельности испытуемых: исходное состояние с открытыми и закрытыми глазами, выполнение заданий первой серии без звуковой помехи, состояние спокойного бодрствования в период между сериями, выполнение заданий второй серии со звуковой помехой, состояние спокойного бодрствование после выполнения заданий. Предложен новый расчетный показатель лабильности когерентных потенциалов θ-диапазона. Выявлена обратная корреляционная зависимость между показателем лабильности и временными параметрами выполнения заданий. На основе показателя лабильности были выделены две группы испытуемых. У испытуемых 1-й группы с высоким показателем лабильности имели место выраженные изменения количества высококогерентных (Кког>0,6) взаимосвязей θ-диапазона ЭЭГ в соответствии с этапами деятельности, и достоверно более высокая, чем у испытуемых 2-й группы, скорость выполнения заданий. У испытуемых 2-й группы с низким показателем лабильности выраженных изменений количества высококогерентных взаимосвязей не наблюдалось. Были выявлены достоверные различия в структуре когерентных связей у испытуемых выделенных групп.

Ключевые слова: когнитивная деятельность, скорость выполнения заданий, когерентность потенциалов, θ-диапазон ЭЭГ.

Сложные психические функции человека требуют интеграции многих процессов, которые осуществляются в различных корковых зонах [4]. Для выявления этой интеграции и степени функциональной связанности корковых зон в настоящее время широко используется метод анализа когерентности биопотенциалов ЭЭГ [7]. Такая интеграция активности зон коры больших полушарий может быть непосредственно связана с определенными показателями деятельности человека, в том числе со скоростными характеристиками выполнения задач разного типа [12,14].

Однако, как это было продемонстрировано в наших предыдущих исследованиях, во многих случаях наиболее информативным показателем, позволяющим сопоставить показатели ЭЭГ с характеристиками когнитивной деятельности человека, является не просто степень синхронизации биопотенциалов, а лабильность когерентности потенциалов ЭЭГ между различными областями коры [3]. Под лабильностью мы понимаем изменение количества и структуры когерентных взаимосвязей различных корковых зон в соответствии с этапами обследования. В частности было показано, что именно изменение количества высококогерентных взаимосвязей в разных диапазонах ЭЭГ коррелирует с временными характеристиками достижения результата зрительно-пространственных задач [1]. С другой стороны, успешность и скорость выполнения задач этого типа прямо или косвенно зависит от процессов памяти, коррелятами которых по данным мно-

гочисленных исследований могут являться изменения параметров θ-диапазона ЭЭГ [5,8].

Цель исследования. Исходя из всего вышесказанного, сделано предположение, о том что лабильность когерентности θ-потенциалов ЭЭГ может быть связана с временными характеристиками выполнения зрительно-моторного задания. Проверка этого предположения явилась целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследования. В исследовании на основе добровольного информированного согласия участвовали 38 испытуемых (мужчины в возрасте 18-21 года). Процедура обследования соответствовала стандартам локального этического комитета Первого ММГУ им. И.М. Сеченова. В качестве зрительно-моторной задачи использовался компьютеризированный тест Горбова-Шульте (красно-черные таблицы). Обследование состояло из двух серий, каждая из которых включала три задания. Во время обследования испытуемый находился в удобном кресле перед экраном монитора (17 дюймов). На мониторе отображалась таблица (7×7 квадратов), содержащая 24 красных и 25 черных квадратов, на каждом из которых имелся собственный номер. Паттерны расположения квадратов для каждого задания были изначально заданы методом случайной генерации. Для всех испытуемых использовался одинаковый набор паттернов.

В первой серии обследования, на основе предварительной инструкции испытуемый должен был в *первом задании* (КЧ) выбрать (указать курсором мышки) черные квадраты в порядке возрастания их номеров от (1 до 25), а затем – красные квадраты в порядке убывания номеров (от 24 до 1). Во *втором задании* (ЧЕРЕД) испытуемый должен был выбрать по очереди черные и красные квадраты, черные в порядке возрастания, а красные в порядке убывания: 1 черный, 24 красный, 2 черный, 23 красный и т.д.

Во второй серии обследования испытуемому предлагали выполнить те же задания в сопровождении голосовой помехи: чтение диктором цифр от 1 до 25 в случайном порядке, не совпадающим с порядком указания испытуемым номеров квадратов и с частотой одна цифра в две секунды.

По результатам выполнения компьютерной задачи для каждого испытуемого вычисляли время между последовательными кликами по квадратам, величина которого усреднялась по каждому заданию (среднее время клика, мс).

ЭЭГ регистрировали в исходном состоянии при *открытых* (Ф1ОГ) и *закрытых* (Ф1ЗГ) глазах, во время выполнения заданий первой серии обследования (КЧ, ЧЕРЕД), в состоянии *спокойного бодрствования* (Ф2ОГ) в перерыве между первой и второй сериями, во время выполнения заданий второй серии (КЧ голос, ЧЕРЕД голос) и в состоянии спокойного бодрствования после выполнения заданий (Ф2ОГ). ЭЭГ регистрировали с помощью электроэнцефалографа «Нейрон-спектр» (г. Иваново) монополярно по схеме «10-20» в затылочных (*O2, O1*), теменных (*P4, P3*), центральных (*C4, C3*), лобных (*F4, F3*) и височных (*T4, T3*) отведениях. Объединённые референтные электроды располагались на мочках ушей. Полоса фильтрации составляла 0,5-35,0 Гц, постоянная времени – 0,32 с, режективный фильтр – 50 Гц. После регистрации все записи ЭЭГ были переведены в компьютерную систему анализа и топографического картирования электрической активности мозга «*BRAINSYS*» для *Windows* и обработаны с помощью аппаратно – программного комплекса «НЕЙРО-КМ» (ООО «Статокин», г. Москва). Артефакты исключали из анализируемой записи с использованием возможностей программного комплекса *BRAINSYS*. Спектрально-когерентный анализ ЭЭГ проводили на основе быстрого преобразования Фурье (пакет программ *BRAINSYS*). Эпоха анализа составляла 4 сек при длительности каждого фрагмента в 1 мин, частота оцифровки – 200 Гц. Для всех пар отведений вычисляли средние значения функции *когерентности* (Кког) в θ-диапазоне (4-7 Гц). Для статистической обработки использовался программный пакет *STATISTICA v*.8.0. При нормальном распределении анализируемых показателей вычисляли среднее значение (*M*) и стандартную ошибку среднего (*m*). Достоверность различий анализируемых показателей у испытуемых выделенных групп оценивали с помощью *t*-критерия для независимых выборок. Достоверность изменения значений показателей в разных ситуациях у одной группы испытуемых оценивали с использованием *t*-критерия для связанных выборок.

Результаты и их обсуждение. Для каждого испытуемого был рассчитан *показатель лабильности* (ПЛ) для когерентных взаимосвязей в θ-полосе по формуле: ПЛ=∑раб–∑фон, где, ∑раб – это сумма Кког полученных при выпол-

нении всех заданий (КЧ, ЧЕРЕД, КЧ голос, ЧЕРЕД голос), ∑фон – сумма Кког для всех ситуации спокойного бодрствования (Ф1ЗГ, Ф1ОГ, Ф2ОГ, Ф3ОГ).

Корреляционный анализ выявил наличие достоверных отрицательных связей ПЛ с показателями среднего времени клика во всех предложенных заданиях (КЧ *r*=-0,445, *p*=0,005; КЧ голос *r*=-0,456, *p*=0,004; ЧЕРЕД *r*=-0,395, *p*=0,014; ЧЕРЕД голос *r*=-0,613, *p*=0,00004). Среднее время клика при выполнении заданий (КЧ, КЧ голос, ЧЕРЕД, ЧЕРЕД голос) составило: у 1-й группы =1839,3±72,93; 1802,7±56,84; 3669,3±186,67; 3403,3±118,33 мс; у 2-й группы = 2169,8±102,99; 2108,6±113,05; 4177,2±166,47; 4516,1±236,57 мс.

По группе испытуемых в целом среднее значение ПЛ равнялось 4,6±0,78, при индивидуальном разбросе от -7,16 до 14,19. На основании ПЛ было выделено две группы испытуемых (1-я группа М=9,25±0,69 *n=15*, 2-я группа М=0,50±0,75 *n=17*).

Было просчитано количество высокодостоверных связей (Кког>0,6) в каждой ситуации обследования.

У испытуемых 1-й группы количество таких связей в фоне при ОГ составило 17,27±1,21 и практически не изменялось при ЗГ (17,07±0,93). При выполнении первого задания (КЧ) количество связей по отношению к Ф1ЗГ достоверно увеличивалось до 21,87±1,27 (*p*=0,000015). После выполнения первой серии число связей достоверно снижалось с 21,13±1,48 (ЧЕРЕД) до уровня фоновых значений (17,00±1,18, *p*=0,000003) (Ф2ОГ). При выполнении второй серии работы (задания с голосовой помехой) количество связей по отношению к предшествующему периоду (Ф2ОГ) достоверно увеличивалось, составив 21,07±1,14 (*p*=0,000024), а сразу после выполнения заданий достоверно снижалось с 20,53±1,27 (ЧЕРЕД гол) до 16,60±1,06 (Ф3ОГ) (*p*=0,000014).

У испытуемых 2 группы подобной динамики в изменении количества связей на последовательных этапах фона и выполнения заданий как в первой так и во второй серии обследования не наблюдалось (рис.).

Значения Кког θ-диапазона ЭЭГ в различных ситуациях обследования достоверно различающихся у испытуемых 1 и 2 групп представлены в табл.

В исходном состоянии при ОГ и ЗГ (Ф1ЗГ, Ф1ОГ) и ситуации спокойного бодрствования (Ф2ОГ) достоверных различий между испытуемыми выделенных групп не обнаружено.

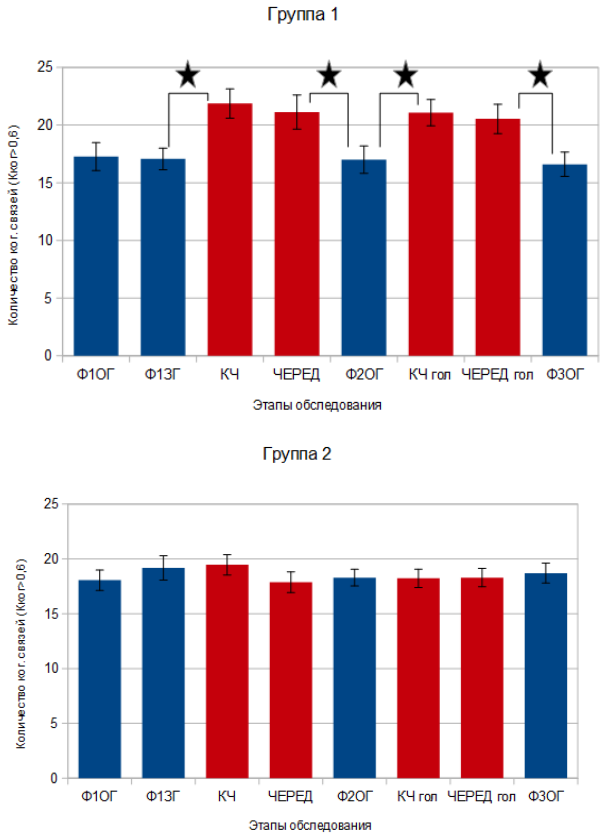


Рис. Количество высококогерентных связей (Кког>0,6) θ-диапазона у испытуемых 1-й и 2-й групп на различных этапах обследования. Звездочками отмечены достоверные различия между количеством когерентных связей на этапах обследования. Достоверность различий приведена в тексте

При выполнении всех заданий Кког θ-диапазона у испытуемых 1-й группы был достоверно выше чем Кког у испытуемых 2-й группы. При этом достоверные различия между испытуемыми 1-й и 2-й групп наблюдались между левой и правой затылочными и контрлатеральными теменными областями коры (табл.).

В настоящем исследовании предлагаемые задания имели разную сложность. Так, КЧ и КЧ голос были значительно проще, чем задания ЧЕРЕД и ЧЕРЕД голос. Обращает на себя внимание тот факт, что при выполнении более сложных заданий появлялись различия во взаимосодействии биопотенциалов θ-диапазона затылочных зон коры.

В ситуациях с наличием голосовой помехи у испытуемых 1-й группы отмечались достоверно более выраженные чем у испытуемых 2-

й группы межполушарные когерентные взаимоотношения с фокусом активности в левой височной области коры. Это может свидетельствовать о большем задействования левого полушария в процессах логического мышления, а также об осуществлении процессов слуховой обработки интерферирующей помехи, затрагивающих зоны височной коры.

Таблица

Коэффициент когерентности θ-диапазона ЭЭГ у испытуемых 1-й и 2-й групп на разных этапах деятельности. Пары отведений, в которых Кког был выше 0,6 выделены жирным шрифтом.

Этапы обследования	Отведения	Средний Кког по группе 1	Средний Кког по группе 2	Значение *p*
Ф1ОГ	-	-	-	-
Ф1ЗГ	-	-	-	-
КЧ	*O2-P3*	0,542	0,454	0,0348
	O1-P4	**0,602**	0,529	**0,0287**
ЧЕРЕД	***O2-O1***	**0,635**	0,545	**0,0260**
	O2-P3	0,532	0,422	0,0057
	O1-P4	0,589	0,504	0,0219
	F4-T3	0,381	0,284	0,0480
	F3-T4	0,349	0,256	0,0479
	T3-T4	0,369	0,236	0,0024
Ф2ОГ	-	-	-	-
КЧ голос	*O2-P4*	**0,827**	**0,758**	**0,0432**
	O2-P3	0,540	0,453	0,0078
	O2-T3	0,375	0,283	0,0319
	O1-P4	0,597	0,529	0,0307
	P4-T3	0,472	0,363	0,0029
	C4-T3	0,457	0,346	0,0108
	F4-T3	0,397	0,293	0,0180
	T3-T4	0,355	0,263	0,0227
ЧЕРЕД голос	*O2-O1*	**0,643**	0,566	**0,0330**
	O2-P3	0,536	0,431	0,0034
	O2-C3	0,387	0,301	0,0300
	O2-T3	0,359	0,264	0,0198
	O1-P4	0,583	0,526	0,0437
	P4-T3	0,453	0,360	0,0127
	C4-T3	0,442	0,356	0,0454
	T3-T4	0,347	0,261	0,0293
Ф3ОГ	*O1-C4*	0,363	0,447	0,0483
	O1-T4	0,285	0,356	0,0306

Обобщая приведенные в табл. данные, следует указать, что при выполнении заданий, наибольшие различия между испытуемыми выделенных групп наблюдались в затылочных, теменных и височных областях коры. Если учитывать то обстоятельство, что во многих зрительно-моторных задачах скорость их выполнения зависит от того, насколько хорошо человек может оперировать информацией в рабочей памяти, то описанная картина когерентных взаимосвязей хорошо согласуется с результатами большого количества исследований, проведенных на человеке и животных. Так, например, в исследовании с участием почти 300 пациентов с вживленными электродами была составлена карта электрической активности мозга, которая наглядно продемонстрировала, что для успешного осуществления процессов памяти необходима θ-синхронизация различных корковых областей, в первую очередь префронтальной, височной и теменной [13]. В исследовании рабочей памяти у обезьян была прослежена связь между успешностью выполнения заданий на кратковременную память и θ-синхронизацией зрительной (зона *V*4) и префронтальной коры [10]. В настоящем исследовании имело место увеличение θ-синхронизации затылочных областей при выполнении наиболее сложных заданий (ЧЕРЕД и ЧЕРЕД голос), что согласуются с результатами исследования по выявлению электрофизиологических коррелятов разной когнитивной нагрузки, где показано увеличение θ-активности при увеличении сложности задания [9]. В литературе имеются свидетельства непосредственного влияния θ-ритма на скорость локомоции животных [6], о связи θ-синхронизации и скорости реакции у людей [11]. Основным результатом настоящего исследования явилось установление связи изменения параметров θ-диапазона ЭЭГ и скоростных характеристик деятельности человека.

Таким образом в настоящем исследовании была установлена прямая корреляция между ПЛ и скоростью выполнения задания (обратная корреляция со средним временем клика) и выявлены основные зоны, в которых наиболее ярко проявлялись различия в когерентности полосы θ-ритма между испытуемыми выделенных по ПЛ групп.

Заключение. Предложен новый показатель ЭЭГ активности – показатель лабильности когерентных взаимосвязей. Показано, что ПЛ когерентных взаимосвязей в диапазоне θ-ритма достоверно коррелирует со скоростными характеристиками выполнения зрительно-моторных заданий. Высокие значения ПЛ были характерны для испытуемых, которые выполняли задания с высокой скоростью. Испытуемые выделенных на основе ПЛ групп отличались разной степенью взаимосодействия биопотенциалов θ-диапазона ЭЭГ на разных этапах обследования.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 49–57
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 49–57

THE SPATIAL CHARACTERISTICS OF THE Θ-RHYTHM OF EEG AND TEMPORAL PARAMETERS OF EXECUTION OF VISUAL-MOTOR TASKS.

N.A. KARATYGIN, I.I. KOROBEYNIKOVA

P.K.Anokhin Research Institute of Normal Physiology, st. Baltiyskaya, building 8, Moscow, 125315, Russia

Abstract. In subjects (38 people, men 20-21 years old) EEG was registered according to the standard scheme when performing the visual-motor task (computerized version of the Gorbov-Shulte test). The characteristics of EEG were analyzed in accordance with the stages of purposeful activity of the subjects: initial state with open and closed eyes, performing tasks of the first series without sound interference, the state of calm waking in the period between the series, performing tasks of the second series with sound interference, the state of calm waking after completing tasks. The new index of lability coherent potential θ-range was proposed. The inverse correlation between lability index and time parameters of tasks execution is revealed. On the basis of lability index, two groups were singled out. Subjects of the 1st group who had a high lability index took place significant changes in the number of high-coherence (Ccoh> 0.6) interrelations of the EEG θ-band in accordance of the stages of activity and reliably higher than in subjects of the 2nd group, speed of performance of tasks. In the subjects of the 2nd group with a low lability index the expressed changes in the number of high-coherence relationships were not observed. Statistically significant differences in the structure of coherent interrelations in the subjects of these groups were revealed.

Key words: cognitive activity, speed performance of tasks, coherence, theta rhythm of EEG.

Complex mental functions of a person require integration of many processes that are occur in different cortical zones [4]. To identify this integration and the degree of functional connectivity of cortical zones, the method of analysis of the coherence of EEG biopotentials is widely used at present [7]. Such integration of the activity of the areas of the cerebral cortex can be directly related to certain indicators of human activity, including speed characteristics of execution of different types of tasks [12,14].

However, as demonstrated in our previous studies, in many cases the most informative indicator that allows comparing EEG indices with the characteristics of human cognitive activity is not just the degree of synchronization of biopotentials, but the lability of EEG potential coherence between different cortical areas [3]. By lability, we mean a change in the number and structure of coherent relationships between different cortical zones in accordance with the stages of the survey. In particular, it was shown that the change in the number of highly coherent interrelations in different EEG bands correlates with the temporal characteristics of achieving the result of visual-spatial tasks [1]. On the other hand, the success and speed of performing tasks of this type directly or indirectly depends on memory processes, correlates of which, according to numerous studies, can be changes in the parameters of the EEG θ-band [5,8].

Purpose of research. Based on all the above, it is assumed that the coherence lability of EEG potentials can be related to the temporal characteristics of the visual-motor task performance. Verification of this assumption was the purpose of this study.

Materials and methods of research. In the survey on the basis of voluntary informed consent has been involved 38 subjects (men aged 18-21 years). The survey procedure met the standards of the local ethical committee of the Sechenov University. As a visual-motor task a computerized test Gorbova-Schulte (red-black table) was used. The survey consisted of two series, each of which included three tasks. During the examination, the subject was in a comfortable chair in front of the monitor screen (17 inches). The monitor displayed a table (7x7 squares), containing 24 red and 25 black squares, each of which had its own number. Patterns of the location of the squares for each task were initially specified by the method of random generation. The same set of patterns was used for all subjects.

In the first series of the survey, subjects were required in accordance with the instructions to select (with the mouse cursor) black squares in ascending order of their numbers (from 1 to 25) , and then red squares in descending order of numbers (from 24 to 1) in the first task (RB). In the second task (TURN), the test subject had to select

black and red squares in turn, black in ascending order, and red in descending order: 1 black, 24 red, 2 black, 23 red, etc.

In the second series of the survey, the subject was offered to perform the same tasks accompanied by voice interference: speaker reading numbers from 1 to 25 in a random order that does not coincide with the order of the test number of squares with a frequency of one digit in two seconds.

According to the results of the computer task for each subject calculated the time between successive clicks on the squares, the value of which was averaged for each task (average click time, ms).

EEG was recorded in the initial state when the open (F1OE) and closed (F1CE) eyes, during the execution of the tasks of the first series of surveys (RB, TURN), in a state of quiet wakefulness in between the first and second series (F2OE), during the execution of the tasks of the second series (RB voice, TURN voice) and in a state of quiet wakefulness, after performing the tasks (F3OE). EEG was recorded using an electroencephalograph "Neuron-spectrum" (Ivanovo) in the monopolar mode according to the "10-20" system from the occipital (O2, O1), parietal (P4, P3), central (C4, C3), frontal (F4, F3) and temporal (T4, T3) derivations. Linked earlobe electrodes served as a reference electrode. The filtration band was 0,5-35,0 Hz, time constant-0,32 s, band-stop filter-50 Hz. After registration all records of EEG were transferred to computer system of the analysis and topographic mapping of electrical activity of brain "BRAINSYS" for Windows and processed by means of a hardware - software complex "NEURO-KM" (OOO Statokin, Moscow). The artifacts were excluded from the analyzed record using the capabilities of the BRAINSYS software package. Spectral-coherent EEG analysis was performed on the basis of fast Fourier transform (BRAINSYS software package). The epoch of the analysis was 4 seconds for the duration of each fragment in 1 min, digitization frequency – 200 Hz. For all pairs of channels, the mean values of the coherence function (Ccoh) in the θ-range (4-7 Hz) were calculated. For statistical processing was used the software package STATISTICA V. 8.0. With the normal distribution of the analyzed parameters, the mean (M) and standard error of the mean (m) were calculated. Reliability of the differences in the analyzed parameters in the subjects of the selected groups was estimated using the t-test for independent samples. Reliability of changing the values of the indicators in different situations in one group of subjects was estimated using the t-criterion for the dependent samples.

Results and discussion. For each subject, the lability index (LI) was calculated for coherent relations in the θ-band according to the formula: LI = ∑work - ∑background, where, ∑ work is the sum of Ccoh obtained in the performance of all tasks (RB, TURN, RB voice, TURN voice), ∑background - the amount Ccoh for all situations of quiet wakefulness (F1CE, F1OE, F2OE, F3OE).

Correlation analysis revealed the presence of reliable negative links LI with the average time of click in all the proposed tasks (RB r = -0,445, p=0.005; RB voice r = -0,456, p=0,004; TURN r = -0,395, p=0,014; TURN voice r = -0,613, p=0,00004). The average time of a click when performing tasks (RB, RB voice, TURN, TURN voice) was as follows: 1st group =1839,3±72,93; 1802,7±56,84; 3669,3±186,67; 3403,3±118,33 ms; 2nd group = 2169,8±102,99; 2108,6±113,05; 4177,2±166,47; 4516,1±236,57 ms.

For the group of subjects in general, the average value of LI is equal to 4,6±0,78, the individual variation from -7,16 to 14,19. On the basis of LI were allocated two groups of subjects (1st group M=9,25±0,69 *n*=15, 2nd group M=0,50±0,75 *n*=17).

The number of highly reliable relations (Ccoh>0,6) in each survey situation was calculated.

In subjects of the 1st group the number of such relations in the background with OE was 17,27±1.21 and almost did not change at CE (17,07±0,93). When performing the first task (RB) the number of relations with respect to F1CE increased reliably to 21,87±1,27 (*p*=0,000015). After performing the first series the number of relations was significantly reduced from 21,13±1,48 (TURN) to the level of background values (17,00±1,18, *p*=0,000003) (F2OE). When performing the second series of work (tasks with voice interference), the number of connections relative to the previous period (F2OE) was significantly increased, reaching 21,07±1,14 (*p*=0,000024), and immediately after the assignments was reliably decreased from 20,53±1,27 (TURN voice) to 16,60±1,06 (F3OE) (*p*=0,000014).

In the subjects of 2nd groups such dynamics in the change in the number of connections at successive stages of the background and the tasks execution both in the first and in the second series of the survey were not observed (Fig.).

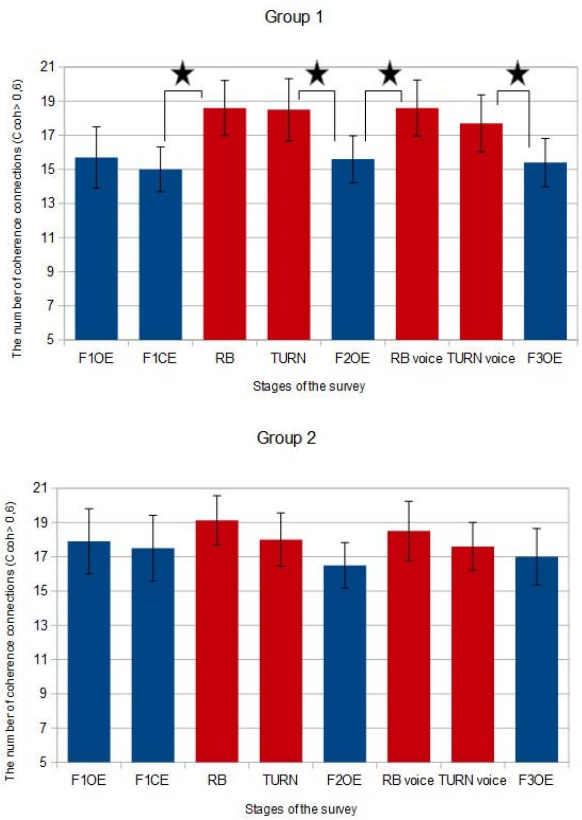


Fig. The number of high-coherence connections (Ccoh> 0,6) of the θ-range in the subjects of the 1st and 2nd groups at different stages of the survey. The asterisks show reliable differences between the number of coherent connections at the stages of the survey. The reliability of the differences is given in the text.

The values Ccoh θ-band EEG in different survey situations significantly different in subjects 1st and 2nd groups are presented in the table.

In the initial state when the OE and CE (F1CE, F1OE) and in the situation of quiet wakefulness (F2OE) there were no significant differences between the subjects of the selected groups.

In all situation of task execution Ccoh in θ-range in the subjects of the 1st group was reliably higher than that in the subjects of the 2nd group. Herewith, reliable differences between the subjects of the 1st and 2nd groups were observed between the left and right occipital and contralateral parietal cortex areas (table).

In this study, the proposed tasks had different complexity. So, RB and RB voice were much easier than tasks TURN and TURN voice. Attention is drawn to the fact that when performing more complex tasks, differences appeared in the interaction of the biopotentials of the θ-band of the occipital cortical zones.

Table

Coefficient of the EEG θ-band coherence in the subjects of the 1st and 2nd groups at different stages of survey. The pairs of EEG derivations in which Ccoh was above 0,6 are shown in bold

Stages of the survey	The pairs of EEG derivations	Average Ccoh by group 1	Average Ccoh by group 2	*p* value
F1OE	-	-	-	-
F1CE	-	-	-	-
RB	*O2-P3*	0,542	0,454	0,0348
	O1-P4	**0,602**	0,529	**0,0287**
TURN	***O2-O1***	**0,635**	0,545	**0,0260**
	O2-P3	0,532	0,422	0,0057
	O1-P4	0,589	0,504	0,0219
	F4-T3	0,381	0,284	0,0480
	F3-T4	0,349	0,256	0,0479
	T3-T4	0,369	0,236	0,0024
F2OE	-	-	-	-
RB voice	***O2-P4***	**0,827**	**0,758**	**0,0432**
	O2-P3	0,540	0,453	0,0078
	O2-T3	0,375	0,283	0,0319
	O1-P4	0,597	0,529	0,0307
	P4-T3	0,472	0,363	0,0029
	C4-T3	0,457	0,346	0,0108
	F4-T3	0,397	0,293	0,0180
	T3-T4	0,355	0,263	0,0227
TURN voice	***O2-O1***	**0,643**	0,566	**0,0330**
	O2-P3	0,536	0,431	0,0034
	O2-C3	0,387	0,301	0,0300
	O2-T3	0,359	0,264	0,0198
	O1-P4	0,583	0,526	0,0437
	P4-T3	0,453	0,360	0,0127
	C4-T3	0,442	0,356	0,0454
	T3-T4	0,347	0,261	0,0293
F3OE	*O1-C4*	0,363	0,447	0,0483
	O1-T4	0,285	0,356	0,0306

In situations with the presence of voice interference, the subjects of the 1st group had reliably more pronounced interhemispheric coherent relationships with the focus of activity in the left temporal region of the cortex, than the 2nd group subjects. This may indicate a greater involvement of the left hemisphere in the processes of logical thinking, as well as the implementation of processes of auditory processing interference affecting the temporal cortex.

Summarizing the data given in the table, it should be noted that when performing tasks, the greatest differences between the subjects of the selected groups were observed in the occipital, parietal and temporal cortex areas. Taking into ac-

count the fact that in many visual-motor tasks the speed of their performance depends on how well a person can operate with information in the working memory, the described picture of coherent relationships is in good agreement with the results of a large number of studies conducted on humans and animals. For example, in a study involving almost 300 patients with implanted electrodes, a map of brain electrical activity was compiled, which clearly demonstrated that for the successful implementation of memory processes, θ-synchronization of various cortical areas, primarily prefrontal, temporal and parietal is necessary [13]. In the study of working memory in monkeys the connection between the success of short-term memory tasks and θ-synchronization of visual (zone V4) and prefrontal cortex was shown [10]. In the present study, there was an increase in θ-synchronization of occipital areas in the performance of the most complex tasks (TURN and TURN voice), which is consistent with the results of the study to identify electrophysiological correlates of different cognitive load, which shows an increase in θ-activity with an increase in the complexity of the task [9]. There is evidence in the literature of the direct influence of the θ-rhythm on the rate of locomotion of animals [6], on the connection of θ-synchronization and the reaction rate in humans [11]. The main result of the present study was to establish the relationship between changes in the parameters of the EEG θ-band and speed characteristics of human activity.

Thus, in this study, a direct correlation between LI and the speed of the task execution (inverse correlation with the average click time) was established and were revealed the main zones, in which the differences in the coherence in the range of θ-rhythm between the subjects of the groups separated by LI were most pronounced.

Conclusion. We proposed new measure of EEG activity — a lability index of the coherent relationships. It is shown that LI of coherent interrelations in the range of θ-rhythm reliably correlates with speed characteristics of performance in visual-motor tasks. High values of LI were typical for subjects who performed tasks with high speed. The subjects of the LI-based groups differed in different degree of interaction of biopotentials of the θ-band of EEG at different stages of the survey.

Литература

1. Джебраилова Т.Д., Коробейникова И.И., Каратыгин Н.А. Лабильность структуры когерентных взаимосвязей биопотенциалов в диапазонах основных ритмов ЭЭГ и эффективность интеллектуальной деятельности человека // Академический журнал Западной Сибири. 2014. Т.10, №3(52). С. 58–60.

2. Коробейникова И.И., Каратыгин Н.А., Венерина Я.А.,Бирюкова Е.В. Усвоение ритма световых мельканий и результативность интеллектуальной деятельности // Тюм.Мед. Ж. 2017. Т.19, №2. С. 37–43.

3. Судаков К.В., Джебраилова Т.Д., Коробейникова И.И., Каратыгин Н.А. Геометрические образы (обзоры) когерентных взаимоотношений биопотенциалов различных частотных диапазонов ЭЭГ в динамике целенаправленной деятельности человека //Российский физиологический журнал. 2013. Т.99, В.6. С. 706–718.

4. Хрестоматия по нейропсихологии. под редакцией Хомской Е.Д. 3-е изд. СПб.: Питер, 2010. 992 с.

5. Backus A.R., Schoffelen J.M., Szebényi S., Hanslmayr S., Doeller C.F. Hippocampal-prefrontal

References

1. Dzhebrailova TD, Korobeinikova II, Karatygin NA. Labil'nost' struktury kogerentnyh vzaimosvyazej biopotencialov v diapazonah osnovnyh ritmov EEG i ehffektivnost' intellektual'noj deyatel'nosti cheloveka. Akademicheskij zhurnal Zapadnoj Sibiri. 2014;10(3):58-60. Russian.

2. Korobeinikova II, Karatygin NA, Venerina YA, Birukova EV. Usvoenie ritma svetovyh mel'kanij i rezul'tativnost' intellektual'noj deyatel'nosti. Tyumenskij medicinskij zhurnal. 2017;19(2):37-43. Russian.

3. Sudakov KV, Dzhebrailova TD, Korobeinikova II, Karatygin NA. Geometricheskie obrazy (obzory) kogerentnyh vzaimootnoshenij biopotencialov razlichnyh chastotnyh diapazonov EEG v dinamike celenapravlennoj deyatel'nosti cheloveka. Rossijskij fiziologicheskij zhurnal. 2013;99(6):706-18. Russian.

4. Hrestomatiya po nejropsihologii. pod redakciej Homskoj E.D. 3-e izd. SPb.: Piter. 2010. Russian.

5. Backus AR, Schoffelen JM, Szebényi S, Hanslmayr S, Doeller CF. Hippocampal-prefrontal theta oscilla-

theta oscillations support memory integration. // Current Biology. 2016. Vol.26, No 4. P. 450–457.

6. Bender F., Gorbati M., Cadavieco M.C., Denisova N, Gao X., Holman C., Korotkova T., Ponomarenko A. Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. // Nature communications. 2015. Vol. 6. P. 8521.

7. Bastos A.M., Schoffelen J.M. A tutorial review of functional connectivity analysis methods and their interpretational pitfalls. // Frontiers in systems neuroscience. 2016. Vol. 9. P. 175.

8. Colgin L.L. Mechanisms and functions of theta rhythms//Annu. Rev. Neurosci. 2013. Vol. 36. P. 295–312.

9. Fournier L.R., Wilson G.F., Swain C.R. Electrophysiological, behavioral, and subjective indexes of workload when performing multiple tasks: manipulations of task difficulty and training // International Journal of Psychophysiology. 1999. Vol. 31, No 2. P. 129–145.

10. Liebe S., Hoerzer G. M., Logothetis N. K., Rainer G. Theta coupling between V4 and prefrontal cortex predicts visual short-term memory performance. // Nature neuroscience. 2012. Vol.15, No 3. P. 456.

11. Papenberg G., Hämmerer D., Müller V., Lindenberger U., Li S.C. Lower theta inter-trial phase coherence during performance monitoring is related to higher reaction time variability: a lifespan study // NeuroImage. 2013. Vol. 83. P. 912–920.

12. Silberstein R.B., Song J, Nunez P.L., Park W. Dynamic sculpting of brain connectivity is correlated with performance //Brain Topogr. 2004. Vol. 16. No 4. P. 249 –254.

13. Solomon E. A., Kragel J. E., Sperling M. R., Sharan A., Worrell G., Kucewicz M., Inman C. S., Lega B., Davis K. A., Stein J. M., Jobst B. C., Zaghloul K. A., Sheth S. A., Rizzuto D. S., Kahana M. J. Widespread theta synchrony and high-frequency desynchronization underlies enhanced cognition. // Nature Communications. 2017. Vol. 8, No 1. P. 1704.

14. Watrous A.J., Fried I., Ekstrom A.D. Behavioral correlates of human hippocampal delta and theta oscillations during navigation. // Journal of Neurophysiology. 2011. Vol. 105, No 4. P. 1747–1755.

tions support memory integration. Current Biology. 2016;26(4):450-7.

6. Bender F, Gorbati M, Cadavieco MC, Denisova N, Gao X, Holman C, Korotkova T, Ponomarenko A. Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. Nature communications. 2015;6:8521.

7. Bastos AM, Schoffelen JM. A tutorial review of functional connectivity analysis methods and their interpretational pitfalls. Frontiers in systems neuroscience. 2016;9:175.

8. Colgin LL. Mechanisms and functions of theta rhythms. Annu. Rev. Neurosci. 2013;36:295-312.

9. Fournier LR, Wilson GF, Swain CR. Electrophysiological, behavioral, and subjective indexes of workload when performing multiple tasks: manipulations of task difficulty and training. International Journal of Psychophysiology. 1999;31(2):129-45.

10. Liebe S, Hoerzer GM, Logothetis NK, Rainer G. Theta coupling between V4 and prefrontal cortex predicts visual short-term memory performance. Nature neuroscience. 2012;15(3):456.

11. Papenberg G, Hämmerer D, Müller V, Lindenberger U, Li SC. Lower theta inter-trial phase coherence during performance monitoring is related to higher reaction time variability: a lifespan study. NeuroImage. 2013;83:912-20.

12. Silberstein RB, Song J, Nunez PL, Park W. Dynamic sculpting of brain connectivity is correlated with performance //Brain Topogr. 2004;16(4):249-54.

13. Solomon EA, Kragel JE, Sperling MR, Sharan A, Worrell G, Kucewicz M, Inman CS, Lega B, Davis KA, Stein JM, Jobst BC, Zaghloul KA, Sheth SA, Rizzuto DS, Kahana MJ. Widespread theta synchrony and high-frequency desynchronization underlies enhanced cognition. Nature Communications. 2017;8(1):1704

14. Watrous AJ, Fried I, Ekstrom AD. Behavioral correlates of human hippocampal delta and theta oscillations during navigation. Journal of Neurophysiology. 2011;105(4):1747-55.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 58–63
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 58–63

УДК: 615.2 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16060

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МАГНИЕВОГО ПРОИЗВОДНОГО ОРГАНИЧЕСКОЙ КИСЛОТЫ

Е.В. СЕМЕЛЕВА, И.А. ГРОМОВА, Е.В. БЛИНОВА, М.М. ГЕРАСЬКИНА, Д.С. БЛИНОВ, Л.В. ВАНЬКОВА, А.В. НОВИКОВ, А.Н. ЧУДАЙКИН

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», ул. Большевистская, 68, г, Саранск, 430005, Россия, e-mail: bev-saransk@yandex.ru

Аннотация. Исследования проведены на 30 нелинейных белых крысах обоего пола с исходной массой 180-220 г, 36 нелинейных крысах самцах с исходной массой 350-400 г. Использована модель интралюминальной окклюзии средней мозговой артерии с ее последующей реперфузией. Изучено фармакологическое церебропротекторное действие магниевой соли 2-аминоэтансульфоновой кислоты (лабораторный шифр ЛХТ-317) в виде субстанции. Исследуемое соединение при внутривенном введении в дозах 25 и 50 мг/кг эффективно снижает уровень глутаминовой кислоты крови, являющейся медиатором эксайтотоксичности. Не обнаружено дозозависимости реализации фармакологического эффекта. Подкожное введение соединения в диапазоне доз от 50 до 100 мг/кг не приводит к снижению уровня глутамата в крови. На модели транзиторной ишемии и реперфузии головного мозга внутривенное введение ЛХТ-317 в дозе 25 мг/кг в профилактическом и терапевтическом режимах сопровождается снижением моторного дефицита и объема некроза головного мозга на фоне уменьшения плазменных концентраций глутаминовой кислоты. Полученные результаты указывают на то, что соединение ЛХТ-317 обладает выраженным нейропротективным эффектом при ишемическом повреждении тканей головного мозга, способствует уменьшению симптомов ишемического инсульта, ускоряет восстановление нарушенных функций головного мозга.

Ключевые слова: ЛХТ-317, глутаминовая кислота, эксайтотоксичность, ишемия головного мозга, реперфузия, двигательная функция, зона некроза головного мозга.

Введение. Сосудистые катастрофы головного мозга, травматическое повреждение ЦНС, дегенеративно-дистрофические процессы сохраняют лидирующие позиции по уровню заболеваемости и прогностической значимости в популяции молодых людей и лиц пожилого и старческого возраста [4,6,8]. До настоящего времени не разработано эффективных консервативных методов лечения и профилактики указанных серьезных заболеваний. Вместе с тем, установлена прямая зависимость между уровнем глутаминовой кислоты в экстрацеллюлярной жидкости тканей головного мозга и инсультом, менингитом, травматическим поражением головного мозга, а также хроническими патологическими процессами ЦНС, такими как ВИЧ-ассоциированная деменция, боковой амиотрофический склероз и др. [2,3,7,10]. При всех указанных патологиях предотвращение роста концентрации глутаминовой кислоты в мозгу позволяет улучшать последствия указанных патологий как у людей, так и в экспериментах на животных [2,10].

Цель исследования – изучение влияния нового органического соединения магния ЛХТ-317 на динамику концентрации глутаминовой кислоты, а также течение ишемии/реперфузии головного мозга в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено с соблюдением требований приказа Минздрава России №199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», иными нормативными правовыми актами, регламентирующими доклинические лабораторные исследования, основываясь на принципах гуманного обращения с подопытными животными. Протоколы лабораторных экспериментов прошли этическую экспертизу на заседании Локального этического комитета Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарёва» (21 октября 2017 года, протокол №10). Объектом исследования являлось соединение с лабораторным шифром ЛХТ-317 (магния аминоэтансульфонат), синтезированное в АО «ВНЦ БАВ» (Россия) в виде субстанции.

Концентрацию глутаминовой кислоты в крови измеряли у наркотизированных внутривенно уретаном в дозе 400 мг/кг нелинейных белых лабораторных крыс обоего пола массой 180-220 г. У животного осуществляли катетеризацию хвостовых артерии и вены при помощи катетеров *G*24, которые фиксировали на спине животных. Внутривенное введение ЛХТ-317 осуществляли через первый канал инжектора, отбор образцов крови проводили через второй канал электронного программируемого двухканального инжектора производства «*Kent Scientific*» (США). Глутаминовую кислоту (*Sigma Aldrich*, ≥98%) вводили внутривенно в дозе 0,015 мкг/кг в 0,9% растворе натрия хлорида для инъекций в объеме 0,5 мл болюсно. Соединение вводили внутривенно в дозах 50 и 25 мг/кг. Для дозы 25 мг/кг была проведена дополнительная экспериментальная серия с повторным введением вещества в той же дозе через 1 час после первого введения. Крысам контрольной группы вводили соответствующий объем 0,9% раствора натрия хлорида для инъекций. Отбор образцов крови осуществляли перед введением и через 1, 2, 4, 6 и 24 часа после введения фармакологического агента в объеме 0,2 мл. Биохимическое определение содержания глутаминовой кислоты в образце проводили флюориметрическим методом по *Graham and Aprison* [5] на фотометре «*Emilite*1201» (США) при длине волны активации 350 нм и длине волны регистрации 460 нм.

Фокальную ишемию головного мозга с последующей реперфузией моделировали у нелинейных белых крыс-самцов весом 350-400 г, наркотизированных уретаном в дозе 400 мг/кг внутривенно с помощью интралюминальной окклюзии средней мозговой артерии по методике, описанной *Longa et al.* (1989) [9]. В экспериментах для окклюзии средней мозговой артерии были использованы филаменты фирмы «*DOCCOL*» (США), с помощью силиконового наконечника которым перекрывали устье отхождения средней мозговой артерии. В экспериментах с реперфузией филамент оставляли на 80 минут, затем его осторожно вынимали. После снятия микрохирургической сосудистой клипсы, рану послойно ушивали, местно обрабатывали раствором антибиотика (гентамицина). Подкожно в область шва вводили 2% раствор лидокаина для послеоперационного обезболивания. Внутривенно вводили 1 мл физиологического раствора для предупреждения обезвоживания. Ложно-оперированным животным проводили все вышеописанные манипуляции, кроме установки филамента. Введение ЛХТ-317 осуществляли внутривенно через установленный в хвостовую артерию катетер *G*24 при помощи электронного программируемого двухканального инжектора производства «*Kent Scientific*» (США) за 15 мин до окклюзии мозговой артерии («профилактический режим») или через 60 мин после реперфузии мозговой артерии («терапевтический режим») в дозе 25 мг/кг. Образцы крови для определения плазменного уровня глутаминовой кислоты забирали через венозный катетер, установленный в хвостовую вену и фиксированный на спине животного перед воспроизведением патологического процесса, а также через 1, 2 и 3 часа после реперфузии артерии в объеме 0,2 мл, восполняемом внутривенным введением 0,9% физиологического раствора хлорида натрия. Морфологическое определение размеров зоны некроза головного мозга проводили через 1 сутки (по 6 животных в группе) и через 7 сут (по 6 животных в группе) после постановки эксперимента. Определение концентрации глутаминовой кислоты осуществляли по вышеописанной методике. Оценку степени поражения головного мозга проводили индикаторным методом. Срезы головного мозга (ипсилатерального полушария) окрашивали в 2% растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ «*Sigma-Aldrich*», Германия) в фосфатном буфере. В дальнейшем срезы головного мозга крыс фотографировали цветной видеокамерой *CCD IRIS* (модель *DXC*-107*AP*, *SONY,* Япония), соединенной с микроскопом (*Olympus SZ-CTV*, Япония). Каждый срез мозга обрабатывался автоматически с помощью программы «*Image J*» (*National Institute of Health*, США). Для расчета объема некроза использовали формулу, учитывающую вклад отека мозга в размер очага поражения. Сенсомоторную активность животных оценивали через 7 сут эксперимента с использованием установки «Тест цилиндр» с системой видеорегистрации ООО «НПК Открытая наука» (Санкт-Петербург). Тест «Цилиндр» использовали для выявления асимметрии использования передних конечностей, при одностороннем повреждении сенсомоторной коры головного мозга крысы. Рассчитывали коэффициент латеральности.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики [1], использовали параметрический

(Ньюмена-Кейлса) критерий. Нормальность распределения определяли с помощью одномерного дисперсионного анализа. Использовали пакет программ по статистике *BioStat*.

Результаты и их обсуждение. На первом этапе исследования изучили влияние ЛХТ-317 на концентрацию основного медиатора экстайтотоксичности – глутаминовой кислоты в плазме крови. Полученные результаты представлены в табл. 1. В группе животных интактного контроля концентрация глутаминовой кислоты колебалась в диапазоне в среднем от 150 до 163 мкМ/л, не образуя пиковых значений на протяжении суточного наблюдения. Внутривенное однократное введение животным глутаминовой кислоты в дозе 0,015 мг/кг сопровождалось кратковременным ростом её плазменной концентрации до 197 мкМ/л в среднем в течение первого часа наблюдения с последующей нормализацией концентрации уже ко второму часу опыта. При внутривенном введении соединение ЛХТ-317 эффективно снижало концентрацию глутаминовой кислоты в плазме крови. При увеличении дозы соединения с 25 до 50 мг/кг не было выявлено зависимости «доза-эффект». Повторное введение вещества в дозе 25 мг/кг через 1 час после первой инъекции также не сопровождается существенным ростом активности соединения. На основании этого, доза 25 мг/кг при однократном режиме введения была установлена как оптимальная для снижения уровня глутаминовой кислоты в крови и использована в экспериментах по подтверждению ее эффективности в модели ишемического поражения головного мозга у животных.

При подкожном введении ЛХТ-317 в диапазоне доз от 50 мг/кг до 100 мг/кг не наблюдали значимого эффекта по снижению уровня глутаминовой кислоты. Лишь в максимальной вводимой дозе – 150 мг/кг – вещество снижало концентрацию медиатора эксайтотоксичности через 1 ч после внутривенного введения. Полученные результаты позволили нам заключить, что подкожный путь введения является неэффективным для достижения терапевтического эффекта ЛХТ-317 и малоперспективным для дальнейшего исследования на моделях ишемического повреждения головного мозга при однократном введении.

Нейропротекторную активность соединения ЛХТ-317 при различных режимах введения выявляли на модели ишемии-реперфузии головного мозга на основании исследования динамики уровня глутаминовой кислоты в плазме крови у животных (табл. 2), а также на основе оценки объема поражения головного мозга, измеряемого через 1 сутки и 7 суток после ишемического / реперфузионного повреждения (табл. 3).

Формирование фокальной ишемии головного мозга сопровождается тенденцией к росту уровня глутаминовой кислоты, тогда как реперфузия средней мозговой артерии приводит к значительному увеличению концентрации глутамата, через 1 и 2 часа после восстановления мозгового кровотока. При этом, уже к 3 часу наблюдения концентрация глутаминовой кислоты в крови принимает исходные значения (табл. 2).

Таблица 1

Динамика концентрации глутаминовой кислоты (мкМ/л) в крови животных на фоне внутривенного введения ЛХТ-317

№ п/п	Фармакологический агент	Доза, мг/кг	Время регистрации уровня глутаминовой кислоты					
			Исход	1 ч	2 ч	4 ч	6 ч	24 ч
1.	Интактный контроль	-	158±7	154±12	150±21	163±8	169±14	151±13
2.	Глутаминовая кислота (Контроль К)	0,015	149±9	197±8#	167±11	152±10	144±17	160±10
3.	ЛХТ-317	25	156±12	124±12*	96±10*	74±13*	150±12	152±11
4.		25×2	152±7	120±11*	88±7*	69±10*	128±11	153±9
5.		50	149±11	122±9*	94±8*	89±6*	138±16	155±10

Примечание: # – различия при сравнении с интактным контролем статистически значимы при $p<0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена-Кейлса); * – различия при сравнении с контролем К статистически значимы при $p<0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена-Кейлса)

Профилактическое внутривенное введение ЛХТ-317 в дозе 25 мг/кг предотвращает рост концентрации глутаминовой кислоты у животных с нарушением мозгового кровообращения, о чем свидетельствуют сниженные при сравнении с контрольной группой животных уровни нейромедиатора в крови (табл. 2). Внутривенное введение животным с преходящей ишемией головного мозга исследуемого вещества в дозе 25 мг/кг сразу же после восстановления мозгового кровотока сопровождалось снижением уровня глутаминовой кислоты в образцах крови, забранных у животных

через 2 и 3 часа после реканализации средней мозговой артерии.

Таблица 2

Динамика концентрации глутаминовой кислоты (мкМ/л) в крови животных с ишемией и реперфузией головного мозга на фоне внутривенного введения ЛХТ-317 при различных режимах введения

№ п/п	Фармакологический агент	Доза, мг/кг	Время регистрации уровня глутаминовой кислоты				
			Исход	Окклюзия	1 ч	2 ч	3 ч
1.	Контроль	-	157±8	169±10	184±9	179±11	144±17
2.	ЛХТ-317 профил.	25	151±5	164±15	94±7*	127±12*	147±15
5.	ЛХТ-317 тер.	25	152±10	166±13	157±12	110±10*	134±17

Примечание: профил. – профилактическое введение вещества до формирования ишемии головного мозга, тер. – введение фармакологического агента сразу же после восстановления мозгового кровотока; * – различия при сравнении с контролем статистически значимы при $p<0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена-Кейлса)

На 7-е сутки после окклюзии-реперфузии средней мозговой артерии произвели исследования сенсомоторной активности животных контрольной и опытных групп в «Тесте цилиндр». С помощью системы видеорегистрации вертикальной двигательной активности, было подсчитано общее время прикосновения верхними конечностями стенок цилиндра, а также время, затраченное животным на касание цилиндра лишь одной, непораженной двигательным нарушением, лапой. Был вычислен коэффициент латеральности, свидетельствующий о глубине сенсомоторных нарушений как результата нарушения мозгового кровообращения (рис. 1). В контрольной группе животных значение коэффициента приближалось к 1, свидетельствуя о глубоком нарушении моторной функции одной из верхних конечностей. Внутривенное введение ЛХТ-317 в дозе 25 мг/кг, как в профилактическом режиме, так и после реперфузии мозговой артерии приводит к формированию более мягкого сенсомоторного дефицита, что косвенно может свидетельствовать о более легком поражении головного мозга при ишемически-реперфузионном синдроме. Вместе с тем, обращает на себя внимание тот факт, что наименьшее значение коэффициент принимал в группе животных, получавших вещество в профилактическом режиме.

При оценке глубины поражение ипсилатерального полушария головного мозга крысы при ишемическом процессе и последующей реперфузии были получены следующие результаты (табл. 3).

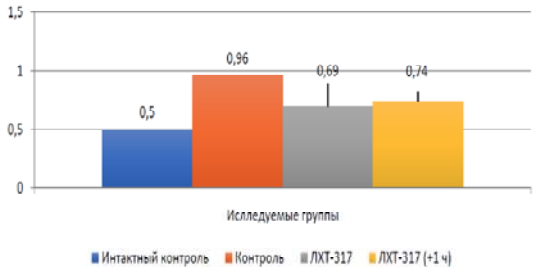


Рис. 1. Значения коэффициентов латеральности ($M±SD$), рассчитанных для животных в исследуемых группах на 7 сутки после формирования ишемии головного мозга

Таблица 3

Показатели объема поражения ипсилатерального полушария головного мозга при интралюминальной окклюзии средней мозговой артерии и ее последующей реперфузии у животных опытных и контрольной групп (по 6 животных в каждой группе на 1-е и 7-е сутки опыта, в % к общему объему полушария)

№ п/п	Фармакологическое воздействие	Время измерения	
		1 сут.	7 сут.
1	Контроль	98±2	69±4
3	ЛХТ 317, 25 мг/кг профил.	63±3*	34±2*
5	ЛХТ-317 25 мг/кг тер.	72±4*	48±3*#

Примечание: * – различия статистически достоверны при сравнении с соответствующим контролем (на 1 сутки, на 7 сутки) при $p<0,05$; # – различия статистически достоверны при сравнении с группой животных, получавших вещество в профилактическом режиме (на 7 сутки) при $p<0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена-Кейлса)

При проведении морфологических исследований головного мозга крыс, перенесших окклюзию средней мозговой артерии с ее последующей реперфузией, установлено, что каждое исследуемое фармакологическое воздействие (в профилактическом или терапевтическом режиме) сопровождается снижением объема поражения тканей мозга при сравнении с контрольной группой животных. Наименьший размер некроза установлен при профилактическом введении соединения ЛХТ-317 при оценке состояния головного мозга на 7 сутки после фармакологического воздействия.

Выводы. Полученные результаты указывают на то, что соединение ЛХТ-317 обладает выраженным церебропротективным эффектом при ишемическом повреждении тканей головного мозга, способствует уменьшению сим-

птомов ишемического инсульта, ускоряет восстановление нарушенных функций головного мозга. В основе фармакологического действия соединения может лежать способность снижать концентрацию глутаминовой кислоты как основного медиатора эксайтотоксичности.

BRAIN-PROTECTIVE ACTIVITY OF MAGNESIUM-CONTAINING COMPOUND OF AN ORGANIC ACID

E.V. SEMELEVA, I.A. GROMOVA, E.V. BLINOVA, M.M. GERASKINA, D.S. BLINOV, L.V. VANKOVA, A.V. NOVIKOV, A.N. CHUDAJKIN

National Research Ogarev Mordovia State University, 430005, Bolshevistskaya Str., 68, Saransk, Russia, e-mail: bev-saransk@yandex.ru

Abstract. The study was conducted in 30 white both sex rats 180-220 g of weight and 36 white male rats 350-400 g of weight with transition ischemic and reperfusion brain injury. We investigated pharmacological brain-protective property of novel magnesium-containing compound of amino-ethane-sulfonic acid (laboratory name LHT-317) as a substance. The substance being introduced at a dose of 25 and 50 mg/kg iv efficiently decreased glutamate blood concentration in dose independent manner. Subcutaneous injection of the substance didn't impact blood glutamate concentration. In experiments in rats with transient ischemic and reperfusion brain injury 25 mg/kg in LHT-317 in preventive and therapeutic regimens decreased motor deficit and brain necrosis volume with accordance of lowering glutamate serum concentration. The obtained results proved the fact that LHT-317 possessed substantial brain-protective property on model of ischemic / reperfusion injury, minimized experimental stroke symptoms, and propelled recovery of brain dysfunction.

Key words: LHT-317, glutamate, excitotoxicity, ischemic and reperfusion brain injury, motor function, brain necrotic zone.

Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: «Практика», 1999. 467 с.

2. Castillo J., Davalos A., Naveiro J., Noya M. Neuroexcitatory amino acids and their relation to infarct size and neurological deficit in ischemic stroke // Stroke. 1996. Vol. 27, No. 6. P. 1060–1065.

3. Ferrarese C., Aliprandi A., Tremolizzo L. Increased glutamate in CSF and plasma of patients with HIV dementia // Neurology. 2001. Vol. 57, No. 4. P. 671–675.

4. Glutamate release and cerebral blood flow after severe human head injury / Zauner A., Bullock R., Kuta A.J. [et al.] // Acta Neurochir. 2006. Suppl. 67. P. 40–44.

5. Graham L.T. Jr, Aprison M.H. Fluorometric determination of aspartate, glutamate, and gamma-aminobutyrate in nerve tissue using enzymic methods // Anal Biochem. 1966. Vol. 15(3). P. 487–497.

6. Heart disease and stroke statistics – 2010 update: a report from the American Heart Association / Lloyd-Jones D., Adams R.J., Brown T.M. [et al.] // Circulation. 2010. Vol. 121, No. 7. P. e46–e215. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA. 109.192667

References

1. Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika [Medical and biological statistics]. Moscow: «Praktika»; 1999. Russian.

2. Castillo J, Davalos A, Naveiro J, Noya M. Neuroexcitatory amino acids and their relation to infarct size and neurological deficit in ischemic stroke. Stroke. 1996;27(6):1060-5.

3. Ferrarese C, Aliprandi A, Tremolizzo L. Increased glutamate in CSF and plasma of patients with HIV dementia. Neurology. 2001;57(4):671-5.

4. Zauner A, Bullock R, Kuta AJ, et al. Glutamate release and cerebral blood flow after severe human head injury // Acta Neurochir. 2006;67:40-4.

5. Graham LT Jr, Aprison MH. Fluorometric determination of aspartate, glutamate, and gamma-aminobutyrate in nerve tissue using enzymic methods. Anal Biochem. 1966;15(3):487-97.

6. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics – 2010 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2010;121(7):e46-215. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA. 109.192667

7. Johnston M.V., Trescher W.H., Ishida A., Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain // Pediatr. Res. 2001. Vol. 49, No. 6. P. 735–741.

8. Laurer H.L., Lenzlinger P.M., McIntosh T.K. Models of traumatic brain injury // Eur. J. Trauma. 2010. Vol. 26. P. 95–100.

9. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats // Stroke; a journal of cerebral circulation. 1989. Vol. 20, No. 1. P. 84–91.

10. Zhang H., Zhang X., Zhang T., Chen L. Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with acute head injuries // Clin. Chem. 2001. Vol. 47, No. 8. P. 1458–1462.

7. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain. Pediatr. Res. 2001;49(6):735-41.

8. Laurer HL, Lenzlinger PM, McIntosh TK. Models of traumatic brain injury. Eur. J. Trauma. 2010;26:95-100.

9. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke; a journal of cerebral circulation. 1989;20(1):84-91.

10. Zhang H, Zhang X, Zhang T, Chen L. Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with acute head injuries. Clin. Chem. 2001;47(8):1458-462.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 64–75

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 64–75

УДК: 618.1:615.849.19 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16172

ВНУТРИВЕННОЕ ЛАЗЕРНОЕ ОСВЕЧИВАНИЕ КРОВИ КАК ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ТЕРАПИИ НАРУЖНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

Л.В. ПОКУЛЬ[*,**], Н.А. ЧУГУНОВА[*], И.Е. НЕСТЕРЕНКО[*], М.Н. КОВАЛЕВА[*]

[*]*Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Новороссийскёий клинический центр Федерального медико-биологического агентства» России, ул. Сакко и Ванцетти, д. 26, г. Новороссийск, Краснодарский край, 353901, Россия, e-mail: liliana_v_p@mail.ru, chugunova_s@mail.ru, ienesterenko@yandex.ru, kovmn@yandex.ru*

[**]*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение Высшего образования «Российский университет дружбы народов», ул. Миклухо-Маклая, д. 6, Москва, 117198, Россия, e-mail: liliana_v_p@mail.ru*

Аннотация. ***Цель исследования*** – изучение *влияния внутривенного лазерного освечивания* крови (ВЛОК) на гематологические параметры и характер личностных особенностей у больных репродуктивного возраста наружными формами эндометриоза в виде эндометриоидных кист яичников.

Материалы и методы исследования. В исследование вошли две группы пациентов: в основную группу I (n=43) пациенты, получившие гормонотерапию + внутривенное лазерное освечивание; в группу сравнения II (n=37) пациенты, получившие гормонотерапию. Во всех обследуемых группах проведено анкетирование на выявление уровня комплайнса (*compliance*), рассматриваемого как принятие пациентом позиции врача, убежденность в его профессионализме, согласие следовать его указаниям. Анкета разработана в соответствии с требованиями к психодиагностическим вопросникам. Оценка боли проводилась по субъективной 5-балльной вербальной шкале. Анализ гематологических показателей крови: гемоглобина, произведен на анализаторе *MEDONIC* серии *M* модуль *M*20, производства Швеция; свертывающая система оценена на биохимическом анализаторе *Dirui CS-T240* производство Китай: фибриноген по Рутбергу, активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновый индекс по Квику.

Результаты и их обсуждение. Суммарное снижение болевого синдром активно проявилось в группе I: частота жалоб с наивысшим показателем боли (5 баллов) снизилась до 21,6% (n=9); показатель «4 балла» уменьшился до 18,6% (n=8). Показатель «3 балла» возрос до 16,3% (n=7); «2 балла» – до 11,6% (n=5), «1 балл» – до 6,97% (n=3) и «0» баллов – до 25,6% (n=11).

У больных группы I, формировалась умеренная гемодилюция и стабилизация гематологического потенциала крови. Медианные показатели гемоглобина, гематокрита и СОЭ свидетельствовали о достоверном их снижении: при U=4,6 p<0,0001 и U=3,05 p<0,002; U=6,2, p<0,0001 (соответственно). Анализ содержания фибриногена при проведении внутригруппового сравнения формировал достоверное его снижение (U=4,7, при p<0,0001). *Активированное частичное тромбопластиновое время* у больных группы I достоверно укорочено (U=7,3, при p<0,0001), также достоверно снижен уровень протромбина в сравнении с исходными данными (U=4,8, p<0,0001).

При средних значениях уровня комплайнса в целом по выборке (M=7,14; σ=2,83), наиболее выражены высокие показатели в группе I (M=9,4; σ=1,31), что достоверно выше, чем в группе сравнения (M=4,51; σ=1,56; при t=15,03 p<0,001).

Заключение. На фоне сочетанной гормональной терапии и лазерного освечивания наблюдается выраженное улучшение реологических свойств крови у больных с наружными формами эндометриоза и снижение болевого синдрома. Применение метода в терапии наружных форм эндометриоза, восстанавливая объективный статус пациентки, способствует повышению коммуникации «Врач-больной».

Ключевые слова: наружный эндометриоз, репродуктивный возраст, внутривенное лазерное освечивание крови, комплайнс.

Актуальность. Эндометриоз, оказывает системное воздействие на организм женщины. Глубокие изменения происходят не только в репродуктивной системе, но, что существенно

для процесса диагностики и ведения больных этого нозологического профиля, происходит перестройка психологических, личностных состояний и свойств [1]. При этом стоит отметить, что распространенность заболевания не имеет тенденции к снижению. В структуре доброкачественных заболеваний женской половой сферы эндометриоз занимает третье место, уступая лишь воспалительным процессам и миоме матки, с частотой встречаемости от 12 до 30% [1,8,9,27]. Согласно данным Международной ассоциации эндометриоза у 50% больных первый эпизод заболевания диагностируется уже в возрасте 24 года! Оказываются уязвимыми и меньшие возрастные группы, в частности у 21% пациенток возможно определение болезни до 15 лет, а у 17% – между 15 и 19 годами [29]. Эндометриоз обнаруживается у 50% женщин с дисменореей, у 75% пациенток с хронической тазовой болью и у 25-40% женщин с бесплодием. Согласно статистики на сегодняшний день в мире более 176 млн. женщин страдает различными формами эндометриоза [19,31]. Особое внимание заслуживают пациентки, у которых среди многочисленных жалоб, на первое место выходит болевой синдром, в том числе – хроническая боль. Верификация тазовой боли при наружных формах эндометриоза достигает 80% [10,28]. Хронический болевой синдром оказывает негативное влияние на общее состояние (слабость, эмоциональная лабильность, нарушение сна) и качество жизни женщины. На протяжении последних лет во всём мире постоянно и активно обсуждаются много вопросов, связанных с понятием «эндометриоз». Но, пожалуй, актуальным остаётся один: как лечить? Накопленный опыт терапии наружного, внутреннего эндометриоза позволяет расширять диапазон применяемых методов терапии: от гормонального до эфферентного [6]. В середине XX века инновационными методами адьювантной терапии различных заболеваний, в том числе и органов репродуктивной системы, стали методы *низкоинтенсивного лазерного излучения* (НИЛИ), обладающего мощным саногенным действием и позволяющего системно повысить иммунитет и реабилитационные возможности организма. Положительные результаты, выражающиеся в стойком восстановлении липидтранспортной системы, снижении показателей *перекисного окисления липидов* (ПОЛ), обнаружены еще Маллак Т.К. в 1995 году, а в публикациях О.Н. Кузьминой в 1993 году отмечен высокий процент клинического выздоровления (92,2%) у больных различными формами эндометриоза [6]. В последующие годы XX и начала XXI столетия исследования в области эфферентных методов терапии акушерско-гинекологических заболеваний не утратили своей актуальности [5]. Однако стоит отметить, среди многообразия существующих публикаций, посвященных влиянию НИЛИ на гомеостаз организма женщины, работ, характеризующих динамику гематологических и коагуляционных показателей крови, их связи с динамикой болевого синдрома у больных с наружными формами эндометриоза нами не найдено. Также еще не нашли своего подтверждения особенности психологической составляющей в виде выраженности комплайнса у больных наружными формами эндометриоза на фоне лазерной терапии.

Цель исследования – изучение влияния *внутривенного лазерного освечивания крови* (ВЛОК) на гематологические параметры и характер личностных особенностей у больных репродуктивного возраста наружными формами эндометриоза в виде эндометриоидных кист яичников. Совокупные данные рассматривались как психологические и психосоматические конструкты субъективного качества жизни.

Материалы и методы исследования. В проспективное, когортное исследование включены больные репродуктивного возраста, проживающих в Краснодарском крае и республике Адыгея, за период с 2015 по 2018 гг. Обследование пациенток соответствовало этическим нормам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (*World Medical Association Declaration of Helsinki*, 1975, 1983, 1989, 2000, 2008). Все женщины подписали письменное информированное согласие. Средний возраст пациенток 35,7±1,6 лет. Исследуемые больные были разделены на группы: основную группу I (n=43) и группу сравнения II (n=37). Критерии включения: репродуктивный возраст; наличие наружных форм эндометриоза (эндометриодные кисты яичников), подтвержденные на основании проведенной лапароскопии с последующим морфологическим исследованием; болевой синдром. Критерии исключения: пере- и постменопаузальный возраст; онкологические заболевания; воспалительные заболевания органов малого таза; наличие инфекций передаваемых половым пу-

тем; дерматозы; системные заболевания; противопоказания к проведению ВЛОК (сердечно-легочная и сердечно-сосудистая патология в стадии декомпенсации; болезни крови; печеночная и почечная недостаточность в стадии декомпенсации; лихорадочные состояния; тяжелые формы тиреотоксикоза; психические заболевания; выраженная гипотония; непереносимость фактора). Всем больным на первом этапе проведена хирургическая лапароскопия эндоскопическим оборудованием *Karl Storz* в объеме энуклеации кисты, с последующей аргоноплазменной коагуляцией ложа опухоли на аппарате ЭХВЧ-а 140-04 «Фотек», Россия. В послеоперационном периоде больным проведена гормональная терапия агонистами гонадотропин рилизинг гормонов, в дозе 3,6 мг подкожно 1 раз в 28 дней 3 мес. Пациенткам группы I гормонотерапия сопровождалась ВЛОК (аппараты «Матрикс-ВЛОК» и «Лазмик», производство Россия, Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09813 от 31.12.2010 и № РЗН 2015/2687 от 25.05.2015), длина волны 635 нм, мощность на конце световода 1,5 мВт, экспозиция 20 минут. Курс лечения составил по 10 сеансов 2 раза с интервалом 2 мес. Контрольные осмотры проведены дважды: перед началом консервативной и адьювантной терапии и через 2 месяца (после второй процедуры ВЛОК) на фоне завершающейся гормонотерапии.

Оценка боли проводилась по субъективной 5-балльной вербальной шкале. Наивысшей болевой категории соответствовали 5 баллов: боль в малом тазу с иррадиацией в поясницу, промежность; 4 балла – боль носила характер выраженной, но с меньшей субъективной оценкой в виде сохраняющегося напряжения в малом тазу, но отсутствием иррадиации в поясничную область; 3 балла – респонденты отмечали выраженное уменьшение болевого синдрома, но сохранялось незначительное напряжение в органах малого таза, в виде периодических ноющих болей; 2 балла – определялись как отсутствие напряжения в малом тазу, отсутствие иррадиирущих болей, но сохраняющийся дискомфорт в области гипогастрия; 1 балл – слабая боль; 0 баллов – отсутствие боли.

Во всех обследуемых группах проведено анкетирование на выявление уровня комплайнса (*compliance*), рассматриваемого как принятие пациентом позиции врача, убежденность в его профессионализме, согласие следовать его указаниям. Анкета разработана в соответствии с требованиями к психодиагностическим вопросникам. В нее включены восемь вопросов, утверждений и дифференцированных заданий. Для каждого пункта анкеты предусмотрены два варианта ответов, отражающих две основные шкалы, предполагающие высокий (шкала 1) или низкий (шкала 2) уровни комплайнса. Суммарный балл по результатам опроса интерпретировался как показатель одного из трех выделенных диагностических уровней комплайнса: высокий, средний, низкий.

Анализ гематологических показателей крови: гемоглобина, произведен на анализаторе *MEDONIC* серии *M* модуль *M*20, производства Швеция; свертывающая система оценена на биохимическом анализаторе *Dirui CS-T240* производство Китай: фибриноген по Рутбергу, *активированное частичное тромбопластиновое время* (АЧТВ), *протромбиновый индекс* (ПТИ) по Квику.

Математическую обработку проводили с использованием пакета *Statistica* 6.0 и медико-биологической программы *BiostatProfessional* 5.25. Критическое значение уровня статистической значимости принимали равным 5%. Различия считались достоверными при $p \leq 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. Выполненное исследование предусматривало оценку клинико-лабораторной эффективности комбинированного лечения с применением ВЛОК в сравнении с самостоятельной гормонотерапией наружного эндометриоза. Оценка результатов клинического статуса обнаружила следующие особенности. Максимальный болевой синдром до начала лечения (5 баллов) присутствовал в целом у 72,1% (n=31) больных группы I. Выраженная боль, но с меньшей субъективной оценкой (4 балла) отмечалась у 16,3% женщин (n=7). Сниженный болевой порог при сохранении напряжения в малом тазу (3 балла) отмечено в 11,6% случаев (n=5). Отсутствие иррадиирующих болей с сохраняющимся дискомфортом (2 балла). Слабая боль и отсутствие боли (1 и 0 баллов) в группе I до начала лечения не диагностированы.

Динамика болевого синдрома через 2 мес. после проведенного лечения определила достоверное возрастание показателей, маркирующих снижение болевого порога. В частности, частота жалоб с наивысшим показателем боли (5 баллов) снизилась до 21,6% (n=9). Изменилось и число наблюдений, в которых отмечает-

ся незначительный болевой синдром. Показатель «3 балла» возрос до 16,3% (*n*=7); «2 балла» – до 11,6% (*n*=5), «1 балл» – до 6,97% (*n*=3) и «0» баллов – до 25,6% (*n*=11). За счет снижения доли пациентов с максимальным уровнем ощущения боли увеличилось количество больных, отмечающих уровень болевого синдрома оценкой в 4 балла: с 16,3% в начале курса лечения до 18,6% (*n*=8).

Болевой синдром у больных группы II, которым терапия эндометриоза включала самостоятельную гормонотерапию, также имел свои особенности. В частности, до начала терапии болевой синдром в «5» баллов обнаруживали у 62,2% (*n*=23); «4» балла – 18,9% (*n*=7); «3» балла – 8,1% (*n*=3); «2» балла – 10,8% (*n*=4) пациентов. При этом обращал на себя внимание факт отсутствия больных с болевым синдром в «1» и «0» баллов, что совпадало с субъективным ощущением боли больных группы I. Через 2 мес. после проведенного лечения шкала боли у респондентов группы II представлялась следующим образом: выраженность болевого синдрома сохранялась на высоком уровне (5 баллов) у 40,5% (*n*=15); ощущения боли по шкале в 4 балла возросли и составили 35,1% (*n*=13) выборки; «3» и «2» балла диагностированы только у 16,2% (*n*=6) и 8,1% (*n*=3) пациенток соответственно.

Таблица 1

Показатели гемограммы больных, включенных в исследование
Me (Q25-Q75)

Группа	Гемоглобин г/л		Гематокрит %		СОЭ мм/час	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
I (*n*=43)	130 (125-140)•	120 (116-128)•	40 (38-42)*	38 (36-40)*	15 (12-18)**	10 (8-11)**
II (*n*=37)	131 (128-140)♦	135 (131-140)♦	40 (39-40)♦♦	42 (40-44)♦♦	15 (13-18)	18 (14-20)

Примечание: достоверность различий U-критерий Манна-Уитни-Вилкоксона; • – сравнение показателей гемоглобина группа I *U*=4,6, *p*<0,0001; * – сравнение показателей гематокрита группа I *U*=3,05, *p*<0,002; ** – Сравнение показателей СОЭ группа I *U*=6,2, *p*<0001; ♦ – сравнение показателей гемоглобина группа II *U*=2,6, *p*<0,05; ♦♦ – сравнение показателей гематокрита группа II *U*=5,3, *p*<0,0001

Клинико-лабораторные результаты, полученные в ходе исследования, определили объективное влияние ВЛОК на показатели гемо- и коагулограммы. В частности, у больных группы I, у которых терапия эндометриоза усиливалась сеансами ВЛОК, формировалась умеренная гемоделюция и стабилизация гематологического потенциала крови. Медианные показатели гемоглобина, гаматокрита свидетельствовали о достоверном их снижении (при *U*=4,6, *p*<0,0001 и *U*=3,05, *p*<0,002 соответственно) – табл. 1.

Стоит отметить выраженное уменьшение показателей *скорости оседания эритроцитов* (СОЭ) у больных группы I. Сравнительный анализ определил доверительный интервал на уровне *p*<0,0001 (*U*=6,2). В целом полученные результаты гемограммы клинически демонстрировали достоверное улучшение микроциркуляции и объективное противовоспалительное влияние НИЛИ на больных, получивших сочетанное гормональное и эфферентное лазерное лечение эндометриоза (группа I).

В результатах гемограммы пациентов группы II, которым этиопатогенетическое лечение проводилось только агонистами гонадотропин рилизинг гормонов, отмечается в целом повышение показателей. В частности, динамика до и после терапии железосодержащего белка (*Hb* г/л) зафиксирована на достоверно высоком уровне *p*<0,05 (*U*=2,9). Закономерным результатом явились и различия медианных показателей объема красных кровяных телец (*Ht*%), *p*<0,0001 (*U*=5,3) При этом необходимо отметить, что соотношение фракций белков плазмы, отражающихся уровнем СОЭ в группе, у больных II также имел характерные особенности. Так, у пациентов после самостоятельной гормонотерапии абсолютные показатели СОЭ расценивались как ускоренные, однако различия находились на уровне тенденции (табл. 1).

Анализ свертывающей системы крови у больных наружным эндометриозом после гормонотерапии и ВЛОК обозначил следующие характеристики (табл. 2).

На фоне сочетанного лечения с применением ВЛОК у больных группы I диагностировалось улучшением показателей. Математический анализ уровня индивидуального содержания фибриногена при проведении внутригруппового сравнения отмечал достоверное его снижение (*p*<0,0001 при *U*=4,7). АЧТВ, как показатель эффективности внутреннего пути свертывания крови, показал укорочение времени свертывания крови у больных группы I (*p*<0,0001 при *U*=7,3), однако показатели не расценивались

как признак гиперкоагуляции, поскольку находились в референсном интервале. Клинически представленная динамика расценивалась как улучшение реологических свойств крови.

Таблица 2

Показатели Коагулограммы больных, включенных в исследование *Me* (Q_{25}-Q_{75})

Группа	Фибриноген		АЧТВ		ПТИ	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
I (*n*=43)	4,0 (3,3-4,2)*	3,0 (2,6-3,5)*	40 (38,2-43,0)**	31(28-34)**	96 (92-100)•	88 (84-93)•
II (*n*=37)	4,0 (3,7-4,2)	4,2 (3,8-4,5)	40 (39-43)••	22(21-25)••	90 (88-96)♦	99 (94-100)♦

Примечание: достоверность различий *U*-критерий Манна-Уитни-Вилкоксона; * – Сравнение фибриногена группа I *U*=4,7, при *p*<0,0001; ** – Сравнение АЧТВ группа I *U*=7,3, при *p*<0,00001; • – Сравнение ПТИ группа I *U*=4,8, при *p*<0,0001; •• – Сравнение АЧТВ группа II *U*=6,6, при *p*<0,00001; ♦ – Сравнение ПТИ группа II *U*=4,0, при *p*<0,0001

У больных группы II, терапия эндометриоза которым проведена только агонистами гонадотропин рилизинг гормонов, отмечено в 1,8 раз усиление гиперкоагуляции (*p*<0,00001 при *U*=6,6). Данный феномен зафиксирован и при оценке внешнего пути свертывания крови на основании *протромбиногового индекса* (ПТИ): *p*<0,0001 при *U*=4,0. Тогда как у больных группы I, использующих адьювантную терапию ВЛОК в сочетании с гормонотерапией, напротив, уровень протромбина был достоверно ниже по сравнению с исходными данными (*p*<0,0001 при *U*=4,8).

Важной особенностью, полученной в ходе исследования, было наличие достоверных различий между группами в показателях реологии крови. Сопоставление результатов гемограммы больных группы I, получивших в схеме лечения сеансы ВЛОК, и больных группы II после самостоятельной гормонотерапии показало, что уровень гемоглобина, гематокрита достоверно более снижен у пациентов группы I (*p*<0,0001 при *U*=5,7 и *U*=4,2 соответственно).

Удалось проследить различия у больных сравниваемых групп в динамике улучшения свертывающей системы. Так достоверное снижение фибриногена (*p*<0,0001 при *U*=6,3), АЧТВ (*p*<0,0001 при *U*=6,3) и ПТИ (*p*<0,0001 при *U*=5,7) отмечено у пациенток группы I в сравнении с показателями по группе II.

Оценка психологической составляющей у больных наружным эндометриозом, их приверженность к лечению показала динамику уровня комплайнса, исследованного с применением специально разработанной анкеты. В целом по совокупной выборке комплайнс представлен средним уровнем: *M*=7,14 (*σ*=2,83). Потребность в профессиональной поддержке лечащего врача обнаруживают все пациенты. Однако, наиболее высокий уровень комплайнса характерен для респондентов группы I, в которой проведено сочетанное лечение эндометриоза (гормонотерапия и ВЛОК). Среднегрупповые показатели результатов опроса в группе I соответствуют высокому уровню комплайнса (*M*=9,4; *σ*=1,31), а в группе II они находятся на границе средне-низких значений (*M*=4,51; *σ*=1,56). Анализ, проведенный с применением *t*-критерия Стьюдента, демонстрирует достоверное преобладание личностной открытости и доверия врачу в группе I по сравнению с группой II (при *t*=15,03 *p*<0,001).

Качественный анализ данных опроса показывает, что высокий уровень комплайнса достоверно преобладает в группе I: (67,4% пациенток; *n*=29 против 21,6%; *n*=8 – в группе II; при φ*=4,28 *p*≤0,001). При этом низкие показатели комплайнса обнаружили только 9,3% пациенток первой группы (*n*=4). В группе II низкое доверие врачу проявили 29,7% женщин (*n*=11), что при φ*=4,28 (*p*≤0,007) позволяет говорить о достоверном преобладании этого аспекта взаимодействия врача с пациентами в группе II.

Эндометриоз – одно из неразгаданных заболеваний репродуктивной системы женщины [1,2,17]. Первые научные описания эндометриоза относят к середине XIX века [34], тогда как только в XX столетии, после публикации работ *U. Sampson* (1927) произошло всеобщее признание данного заболевания [30]. Учитывая распространенность эндометриоза, стоит констатировать: оно не имеет тенденции к снижению. Согласно данным Росстата в среднем каждая 10-я женщина репродуктивного возраста болеет эндометриозом [22]. Особое место среди всех локализаций наружного генитального эндометриоза первое место занимает эндометриоз яичников. Доля представленности данной

локализации составляет до 70% больных от общего числа заболевших [26].

Широко известно, что на сегодняшний день существует более 50-ти классификаций эндометриоза. Наибольшую признательность получила классификация, предложенная в 1979 г. и переработанная в 1996 г. Американским обществом фертильности (с 1996 г. – Американское общество по репродуктивной медицине). Ее основой является подсчет площади и глубины эндометриоидных гетеротопий, оцененных в баллах [1,33]. В настоящий момент Американская ассоциация гинекологов-эндоскопистов разрабатывает классификацию, которая будет сфокусирована в основном на характеристике боли [2,23].

Поиск наиболее эффективного персонализованного подхода к лечению больных эндометриозом был и остается актуальной задачей медицинской науки. Клинические рекомендации РФ регламентируют для лечения эндометриоза использование различных видов гормональных препаратов [2,17]. Существующие многочисленные схемы гормональной терапии обладают, к сожалению, побочными проявлениями. Возможность расширения арсенала эфферентных методов лечения, обладающих противовоспалительным, иммуностимулирующим, антипролиферативными и рядом других эффектов, подтверждают их высокую комплаентность.

Появление в начале 80-х гг. XX столетия ВЛОК позволило использовать свойство лазера непосредственно на кровь, что продемонстрировало не только безвредность методики, но и ее высокую релевантность в лечении различных заболеваний, в том числе и эндометриоза [6]. На сегодняшний день передовые исследования С.В. Москвина (2018) позволяют сделать выводы о необходимости расширенного применения лазеротерапии в лечении болевого синдрома, воспалительных заболеваний, терапии суставных болезней, пролапса гениталий, бесплодия и т.д. [12,13,15,16].

Принимая во внимание опыт предшествующих исследований, касающихся широкого использования ВЛОК, в проделанной работе для лучшей сопоставимости групп, уточнения результатов нами сужены критерии включения, и основной аспект работы был централизован на репродуктивном возрасте больной, наружном эндометриозе и влиянии внутрисосудистого лазерного освечения крови на эффективность лечения. Важно отметить, у всех больных не регистрировалось каких-либо побочных или нежелательных реакций на фоне терапии. Их отсутствие подтверждали результаты исследования. В частности, у больных группы I (гормонотерапия +ВЛОК) отмечено улучшение микроциркуляции после лечения в среднем в 1,2 раза, при этом свойства свертывающей системы улучшились в 1,3 раза, что достоверно различалось от исходных показателей до лечения и в сравнении с группой больных II, терапия эндометриоза которым проведена только агонистами гонадотропин рилизинг гормонов. Однако стоит отметить, что в целом совокупно по обеим выборкам больных, показатели гемо- и коагулограммы находились в референсных значениях, что позволило не выделять отдельные патологические состояния, связанные с чрезмерной гипо- и гиперкоагуляций. Вместе с тем, у больных, составивших группу II, диагностирован умеренная гиперкоагуляция, обусловленная гормонотерапий, тогда как у пациентов группы I, в схему лечения которых входило использование ВЛОК, повышение свертывающей системы крови было нивелировано.

Показатели гемограммы больных, получивших сеансы ВЛОК (группа I), демонстрировали стабильные показатели красной крови, отсутствие роста гемоглобина и как следствие – возможного пропорционального отклонения объема клеточной части крови – гематокрита. Как известно, агрегация эритроцитов, главным образом, зависит от величины их поверхностного потенциала и белкового состава плазмы крови. Степень агрегации (а значит и СОЭ) повышается при увеличении концентрации в плазме белков острой фазы – маркеров воспалительного процесса. В первую очередь – фибриногена и иммуноглобулинов, в меньшей степени – *С*-реактивного белка, церулоплазмина и других. В нашем исследовании четко прослеживалось достоверно выраженное снижение СОЭ у больных группы I, после сеансов ВЛОК + гормонотерапии, что косвенно указывало на снижение воспалительной составляющей наружного эндометриоза. При этом у больных группы II, напротив, мы наблюдали абсолютное повышение СОЭ. Многочисленные исследования подтверждают, что под действием НИЛИ происходят благоприятные морфологические изменения эритроцитов, увеличивается процентное содержание функционально полноценных эритроцитов дискоидной формы. К

тому же повышается деформабельность мембран эритроцитов, что в целом улучшает реологию крови, и ее кислородно-транспортную функцию, снижая гипоксию тканей, что согласовалось с проведенным нами исследованием [3,6,7,14,20,20,32].

Наружный эндометриоз, как правило, сочетается с тазовой болью различной интенсивности, внося свой порочный вклад в ухудшение качества жизни женщины [25]. *Aerts L.* и соавторы также утверждают, что специфические психосоциальные факторы могут модулировать боль, создавать сложности при лечении [24]. Оценка степени выраженности боли всегда субъективна, но именно субъективное представление о тяжелой, умеренной или легкой боли ложится в основу выбора тактики ведения пациентки. Задача клинициста перевести субъективные жалобы больной в плоскость объективного понимания процесса для определения адекватной тактики лечения [18]. С данной целью рекомендуется использовать аналоговые визуальные и вербальные шкалы боли объективизация выраженности болевого симптома имеет ценность в процессе наблюдения за качеством терапии [10,18]. Результаты вербальной шкалы боли, полученные в ходе исследования, выявили наличие взаимосвязи выраженности болевого синдрома и метода лечения. В целом совокупно по обеим выборкам частота максимального болевого синдрома составляла 72,1% и 62,2% соответственно. Однако после сеансов ВЛОК и гормонотерапии число респондентов группы I, оценивающих максимальным баллом («5») интенсивность болевых ощущений, уменьшилось в 3,4 раза. Положительный эффект в виде снижения болевого порога был отмечен и у пациенток группы II на фоне самостоятельной гормонотерапии, однако при этом снижение достигнуто только в 1,5 раза.

Важным аспектом работы явилось изучение феноменологических особенностей психологической составляющей у больных наружным эндометриозом. В частности, установлены различия в показателях комплайнса, который рассматривается в литературе как согласие пациента следовать указаниям врача, доверие врачу [4]. Более всего обнаруживают потребность в профессиональной поддержке лечащего врача пациенты группы I (гормонотерапия + ВЛОК), где среднее значение результатов опроса соответствует высокому уровню комплайнса. Можно отметить один фактор, негативно влияющий на эффективность коммуникации «врач – пациент» в этой среде больных: они склонны считать, что «для успешной борьбы с болезнью надо все о ней знать». Для пациенток группы I исключительное значение имеет компонент восприятия врача: они чувствуют себя значительно увереннее, когда врач своим оптимизмом вселяет в них уверенность в выздоровлении. Большая часть респондентов этой группы выделили как значимый пункт анкеты «У врача должно быть всегда хорошее настроение».

У пациентов II-й группы отрицательно влияет на формирование комплайнса использование для лечения советов знакомых и друзей, рецептов из СМИ, стремление самостоятельно искать пути выздоровления, личностная расположенность и доверие врачу зрелого возраста. Названные особенности поведения в коммуникации «врач – пациент» снижают уровень комплайнса, что и отражено в показателях по группе II, где диагностировано преобладание средне-низкого уровня комплайнса. Установленные особенности вносят новый вклад в теорию клинического процесса, основывающегося, помимо фундаментальных медико-клинических конструктов, на эффективности коммуникаций в диаде «врач – больной».

Заключение. Эндометриоз остается медико-социальной, междисциплинарой проблемой. Общепризнанные методики лечения (хирургическое, гормональное, комбинированое) являются «золотым» стандартом терапии эндометриоза. Однако ввиду вариабельности проявлений эндометриоза расширение терапевтических возможностей до воздействия НИЛИ демонстрирует высокую комплаентность лечения. Внутривенное лазерное освечивание крови – щадящая нехирургическая методика лечения эндометриоза. Использование отечественных аппаратов для ВЛОК («Матрикс-ВЛОК» и «Лазмик») соответствует этиопатогенетическим показаниям с высокой степенью эффективности и безопасности. На фоне сочетанной гормональной терапии и ВЛОК наблюдается выраженное улучшение реологических свойств крови у больных с наружными формами эндометриоза, снижение болевого синдрома. Применение ВЛОК в терапии наружных форм эндометриоза способствует повышению эффективности психологической составляющей клинического процесса, в частности, коммуникации «Врач – больной».

INTRAVENOUS LASER BLOOD ILLUMINATION AS AN ETHIOPATHOGENIC ASPECT OF THERAPY OF OUTER ENDOMETRIOSIS

L.V. POKUL[*,**], N.A. CHUGUNOVA[*], I.E. NESTERENKO[*], M.N. KOVALEVA[*]

[*]Federal state budgetary healthcare institution "Novorossiysk clinical center, Federal medical-biological Agency" Russia, Sakko and Vantsetti Str., 26, Novorossiysk, Krasnodar region, 353901, Russia, e-mail: liliana_v_p@mail.ru, chugunova_s@mail.ru, ienesterenko@yandex.ru, kovmn@yandex.ru
[**]Federal state Autonomous educational institution of Higher education "Peoples' friendship University of Russia", Miklukho-Maklay Str., 6, Moscow, 117198, Russia, e-mail: liliana_v_p@mail.ru

Abstract. ***The research purpose*** is to study the effect of intravenous laser blood illumination (ILBI) on the hematological parameters and the character of personality characteristics in patients of reproductive age with external forms of endometriosis in the form of endometrioid ovarian cysts.

Materials and methods. The study included two groups of patients: the main group I (n=43) consisted of patients who received hormone therapy + ILBI; the comparison group II (n=37) consisted of patients who received hormone therapy. In all study groups a questionnaire was conducted to determine the level of compliance, considered as acceptance of the doctor's position by the patient, conviction in his professionalism, agreement to follow his instructions. The questionnaire was developed in accordance with the requirements for psycho-diagnostic questionnaires. The assessment of pain was carried out by a subjective 5-point verbal scale. The analysis of hematologic parameters of blood was conducted this way: hemoglobin was analyzed on the MEDONIC M-series analyzer module M20 produced in Sweden; the coagulation system (fibrinogen by the Rutberg method, activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin index (PTI) by Quick) was evaluated on a biochemical analyzer Dirui CS-T240 produced in China.

Results. The overall decrease in the pain syndrome was observed in group I: the frequency of complaints with the highest pain score (5 points) decreased to 21.6% (n=9); the indicator "4 points" decreased to 18.6% (n=8). The indicator "3 points" increased to 16.3% (n=7); "2 points" - up to 11.6% (n=5), "1 point" – up to 6.97% (n=3) and "0" points – up to 25.6% (n=11).

Patients of group I developed moderate hemodilution and stabilization of the blood hematologic potential. Median parameters of hemoglobin, hematocrit and erythrocyte sedimentation rate (ESR) showed a significant decrease: at U=4.6 p<0.0001 and U=3.05 p<0.002; U=6.2, p<0.0001 (respectively). The analysis of the content of fibrinogen during intra-group comparison formed its significant decrease (U=4.7, with p<0.0001). The activated partial thromboplastin time (APTT) in patients of group I was reliably shortened (U=7.3, with p<0.0001), the level of prothrombin was also significantly lowered compared to baseline data (U=4.8, p<0.0001).

At average values of the compliance level for the whole selection (M=7.14, σ=2.83), the highest parameters in group I (M=9.4, σ=1.31) are most pronounced, which is significantly higher than in the comparison group (M=4.51, σ=1.56, with t=15.03 p<0.001).

Conclusion. A marked improvement in the rheological properties of blood in patients with external forms of endometriosis and reduction in pain syndrome is observed against the background of combined hormonal therapy and ILBI. The use of ILBI in the therapy of external forms of endometriosis, restoring the objective status of the patient, contributes to the increase of "doctor-patient" communication.

Key words: external endometriosis, reproductive age, intravenous laser blood illumination, compliance.

Литература

1. Авраменко Н.В. Эндометриоз: патогенез, классификация, диагностика, современные аспекты терапии // Патология. 2014. № 2 (31). С. 4–11.

2. Адамян Л.В., Фархат К.Н., Макиян З.Н., Савилова А.М. Молекулярно-биологическая характери-

References

1. Avramenko NV. EHndometrioz: patogenez, klassifikaciya, diagnostika, sovremennye aspekty terapii [Endometriosis: pathogenesis, classification, diagnosis, modern aspects of therapy]. Patologiya. 2014;2(31):4-11. Russian.

2. Adamyan LV, Farhat KN, Makiyan ZN, Savilova AM. Molekulyarno-biologicheskaya harakteristika

стика эутопического и эктопического эндометрия (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2015. Т. 21(5). С. 8–16.

ehutopicheskogo i ehktopicheskogo ehndometriya (obzor literatury) [Molecular biological characteristics of eutopic and ectopic endometrium (literature review)]. Problemy reprodukcii. 2015;21(5):8-16. Russian.

3. Байбеков И.М., Мавлян-Ходжаев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействия. Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. 256 с.

3. Bajbekov IM, Mavlyan-Hodzhaev RSH, EHrstekis AG, Moskvin SV. EHritrocity v norme, patologii i pri lazernyh vozdejstviya [Erythrocytes in norm, pathology and under laser exposure]. Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2008. Russian.

4. Бондарчукс И.И., Малыгин В.П. Характерологические свойства больных как факторы формирования уровня комплайнса // Материалы I Всероссийской научно-практической конференции: в 2 ч. Казань, 2008. Ч. 1. С. 136–137.

4. Bondarchuks II, Malygin VP. Harakterologicheskie svojstva bol'nyh kak faktory formirovaniya urovnya komplajnsa. Materialy I Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii: v 2 ch. [Character properties of patients as the factors of the level of compliance. Materials of the I all-Russian scientific-practical conference: in 2 parts]. Kazan'; 2008. parts 1. Russian.

5. Быкова К.Г., Федорова Т.А., Пучко Т.К., Бакуридзе Э.М. Внутривенное лазерное облучение крови в профилактике инфекционно-воспалительных осложнений у родильниц после абдоминального родоразрешения // Акушерство и гинекология. 2014. №5. С. 43–50.

5. Bykova KG, Fedorova TA, Puchko TK, Bakuridze EHM. Vnutrivennoe lazernoe obluchenie krovi v profilaktike infekcionno-vospalitel'nyh oslozhnenij u rodil'nic posle abdominal'nogo rodorazresheniya [Intravenous laser irradiation of blood in the prevention of infectious and inflammatory complications in puerperas after abdominal delivery]. Akusherstvo i ginekologiya. 2014;5:43-50. Russian.

6. Гейниц А.В., Москвин С.В., Ачилов А.А. Внутривенное лазерное облучение крови. М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2012. 336 с.

6. Gejnic AV, Moskvin SV, Achilov AA. Vnutrivennoe lazernoe obluchenie krovi [Intravenous laser irradiation of blood]. Moscow–Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2012. Russian.

7. Горис А.П., Москвин С.В., Зарубина Е.Г. Исследование деформабельности мембран эритроцитов методом «лазерный пинцет» у пациентов разных возрастных групп // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в лазерной медицине». М., 2011. С. 117.

7. Goris AP, Moskvin SV, Zarubina EG. Issledovanie deformabel'nosti membran ehritrocitov metodom «lazernyj pincet» u pacientov raznyh vozrastnyh grupp. Materialy nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Innovacionnye tekhnologii v lazernoj medicine» [Study of deformability of erythrocyte membranes by "laser tweezers" in patients of different age groups. Materials of scientific and practical conference with international participation " Innovative technologies in laser medicine»]. Moscow; 2011. Russian.

8. Денисова В.М. Эффективность агониста гонадотропин рилизинг гормона в терапии эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62, № 5. С. 29–34.

8. Denisova VM. EHffektivnost' agonista gonadotropin rilizing gormona v terapii ehndometrioza [The effectiveness of an agonist of gonadotropin releasing hormone in the treatment of endometriosis]. ZHurnal akusherstva i zhenskih boleznej. 2013;62(5):29-34. Russian.

9. Захаренко Н.Ф., Косей Н.В., Коломиец Л.М. Эндометриоз: поиск фармакотерапевтического компромисса // Репродуктивная эндокринология. 2012. № 2. С. 52–56.

9. Zaharenko NF, Kosej NV, Kolomiec LM. EHndometrioz: poisk farmakoterapevticheskogo kompromissa [Endometriosis: search for pharmacotherapeutic compromise]. Reproduktivnaya ehndokrinologiya. 2012;2:52-6. Russian.

10. Кузнецова И.В. Хроническая тазовая боль - женская проблема // Гинекология. 2017. N 3. С. 62–67.

11. Майоров М.В., Жученко С.И., Черняк О.Л., Голубова М.А. Эндометриоз сегодня – разгаданы ли загадки, подтверждаются ли предположения // Доктор. Ру. 2014. Т. 89, №1. С. 50–51.

12. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. 896 с.

13. Москвин С.В., Киселев С.Б. Лазерная терапия при суставно-мышечных болях. М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2018. 264 с.

14. Москвин С.В., Кончугова Т.В., Хадарцев А.А. Основные терапевтические методики лазерного освечивания крови // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2017. Т. 94 (5). С. 10–17.

15. Москвин С.В., Силуяанов К.А. Лазерная терапия в андрологии. Часть I. М. – Тверь: ООО «Издательство» Триада», 2018. 248 с.

16. Москвин С.В., Федорова Т.А., Фотеева Т.С. Плазмаферез и лазерное освечение крови. М. – Тверь: ООО «Издательство «Трада», 2018. 416 с.

17. Мустафина Г.Т., Сахаутдинова И.В., Хабибуллина Р.Н., Яркина Е.И. Современные методы диагностики и лечения эндометриоза яичников // Медицинский вестник Башкортостана. 2015. Т. 10, № 1. С. 113–117.

18. Оразов М.Р. Патогенез, диагностика и лечение тазовой боли, обусловленной аденомиозом: дис. ... докт. мед. наук. М., 2016. 323 с.

19. Унанян А.Л., Демура С.А., Гаспарян А.А., Аракелов С.Э., Полонская Л.С. Эндометриоз и комбинированная гормональная контрацепция: преимущества и риски // Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология. 2014. Т. 19, № 2. С. 53.

10. Kuznecova IV. Hronicheskaya tazovaya bol' - zhenskaya problema [Chronic pelvic pain-women's problem]. Ginekologiya. 2017;3:62-7. Russian.

11. Majorov MV, ZHuchenko SI, CHernyak OL, Golubova MA. EHndometrioz segodnya – razgadany li zagadki, podtverzhdayutsya li predpolozheniya [Endometriosis today – whether the puzzles solved, confirm assumptions]. Doktor. Ru. 2014;89(1):50-1. Russian.

12. Moskvin SV. EHffektivnost' lazernoj terapii. Seriya «EHffektivnaya lazernaya terapiya». T. 2. [The effectiveness of laser therapy. Series "Effective laser therapy". Thom. 2.]. Moscow–Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2014. Russian.

13. Moskvin SV, Kiselev SB. Lazernaya terapiya pri sustavno-myshechnyh bolyah [Laser therapy for joint and muscle pain]. Moscow – Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2018. Russian.

14. Moskvin SV, Konchugova TV, Hadarcev AA. Osnovnye terapevticheskie metodiki lazernogo osvechivaniya krovi [Main therapeutic techniques laser osvetimany blood]. Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. 2017;94(5):10-7. Russian.

15. Moskvin SV, Siluyaanov KA. Lazernaya terapiya v andrologii. CHast' I [Laser therapy in andrology. Part I.]. Moscow – Tver': OOO «Izdatel'stvo» Triada»; 2018. Russian.

16. Moskvin SV, Fedorova TA, Foteeva TS. Plazmaferez i lazernoe osvechenie krovi [Plasmapheresis and laser illumination of blood]. Moscow – Tver': OOO «Izdatel'stvo «Trada»; 2018. Russian.

17. Mustafina GT, Sahautdinova IV, Habibullina RN, YArkina EI. Sovremennye metody diagnostiki i lecheniya ehndometrioza yaichnikov [Modern methods of diagnosis and treatment of ovarian endometriosis]. Medicinskij vestnik Bashkortostana. 2015;10(1):113-7. Russian.

18. Orazov MR. Patogenez, diagnostika i lechenie tazovoj boli, obuslovlennoj adenomiozom [Pathogenesis, diagnosis and treatment of pelvic pain caused by adenomyosis] [dissertation]. Moscow (Moscow region); 2016. Russian.

19. Unanyan AL, Demura SA, Gasparyan AA, Arakelov SEH, Polonskaya LS. EHndometrioz i kombinirovannaya gormonal'naya kontracepciya: preimushchestva i riski [Endometriosis and combined hormonal contraception: benefits and risks]. EHffektivnaya farmakoterapiya. Akusherstvo i ginekologiya.

20. Хадарцев А.А., Борисова О.Н., Киреев С.С., Еськов В.М. Реабилитационно-восстановительные медицинские технологии в медико-биологических исследованиях ученых Тульской области (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 3-11. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4972.pdf (дата обращения 24.10.2014). DOI: 10.12737/6038.

21. Хадарцев А.А., Фудин Н.А., Москвин С.В. Электролазерная миостимуляция и лазерофорез биологически активных веществ в сорте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2016. Т. 93, №2. С. 59–67.

22. Шестакова И.Г., Ипастова И.Д. Эндометриоз: новый консенсус — новые решения. Глобальный консенсус по ведению больных эндометриозом как первый шаг к созданию отраслевых стандартов. Информационный бюллетень. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2014. С.16

23. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация: Федеральные клинические рекомендации по ведению больных / под ред. Л. В. Адамян. М., 2013. 65 с.

24. Aerts L., Grangier L., Streuli I., Dällenbach P., Marci R., Wenger J.M., Pluchino N. Psychosocial impact of endometriosis: From co-morbidity to intervention // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018. № 18. P. 30026–30029.

25. Al-Jefout M., Alnawaiseh N., Yaghi S., Alqaisi A. Prevalence of Endometriosis and Its Symptoms among Young Jordanian Women with Chronic Pelvic Pain Refractory to Conventional Therapy // J. Obstet. Gynaecol. Can. 2018. N 40 (2). P. 165–170.

26. Barbieri R.L. Etiology and epidemiology of endometriosis // Am J. Obstet. Gynecol. 2000. Vol.162, №2. P. 565–572.

27. Burney R.O., Giudice L.C. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis // Fertil Steril. 2012. Vol. 98(3). P. 511–519.

2014;19(2):53. Russian.

20. Khadartsev AA, Borisova ON, Kireev SS, Es'kov VM. Reabilitatsionno-vosstanovitel'nye meditsinskie tekhnologii v mediko-biologicheskikh issledova-niyakh uchenykh Tul'skoy oblasti (obzor literatury) [Rehabilitation and recovery medical technologies in biomedical research of scientists of the Tula region (literature review)]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2014[cited 2014 Oct 24];1:[about 9 p.]. Russian. Available from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4972.pdf. DOI: 10.12737/6038.

21. KHadarcev AA, Fudin NA, Moskvin SV. EHlektrolazernaya miostimulyaciya i lazeroforez biologicheski aktivnyh veshchestv v sorte [Elektrolizery muscle toning and literatures biologically active substances in sort]. Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. 2016;93(2):59-67. Russian.

22. SHestakova IG, Ipastova ID. EHndometrioz: novyj konsensus — novye resheniya. Global'nyj konsensus po vedeniyu bol'nyh ehndometriozom kak pervyj shag k sozdaniyu otraslevyh standartov. Informacionnyj byulleten' [Endometriosis: a new consensus, new solutions. Global consensus on the management of endometriosis as a first step towards establishing industry standards. Information Bulle-shadow]. Moscow: Redakciya zhurnala StatusPraesens; 2014. Russian.

23. EHndometrioz: diagnostika, lechenie i reabilitaciya: Federal'nye klinicheskie rekomendacii po vedeniyu bol'nyh. Pod redakciej L.V. Adamyan [Endometriosis: diagnosis, treatment and rehabilitation: Federal clinical guidelines for the management of patients. Edited by L. V. Adamyan]. Moscow; 2013. Russian.

24. Aerts L, Grangier L, Streuli I, Dällenbach P, Marci R, Wenger JM, Pluchino N. Psychosocial impact of endometriosis: From co-morbidity to intervention. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018;18:30026-9.

25. Al-Jefout M, Alnawaiseh N, Yaghi S, Alqaisi A. Prevalence of Endometriosis and Its Symptoms among Young Jordanian Women with Chronic Pelvic Pain Refractory to Conventional Therapy. J. Obstet. Gynaecol. Can. 2018;40(2):165-70.

26. Barbieri RL. Etiology and epidemiology of endometriosis. Am J. Obstet. Gynecol. 2000;162(2):565-72.

27. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril. 2012;98(3):511-9.

28. Cramer D.W., Missmer S.A. The epidemiology of endometriosis // Ann. NYAcad. Sci. 2002. №955. P. 11–22.

29. Laufer M.R., Sanfilippo J., Rose G. Adolescent endometriosis: diagnosis and treatment approaches // J Pediatr Adolesc Gynecol. 2003. Vol. 16(3). P. 3–11.

30. Sampson J.A. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity // Am. J. Obstet Gynecol. 1927. № 14. P. 422–469.

31. Sauvan M., Chabbert-Buffet N., Geoffron S., Legendre G., Wattier J.M., Fernandez H. Management of painful endometriosis in adolescents: CNGOF-HAS Endometriosis Guidelines // Gynecol. Obstet. Fertil. Senol. 2018. N 46(3). P. 264–266.

32. Siposan D.G., Bobe. Effects of HeNe laser on stored blood // Laser therapy. 2010. Vol. 19, № 4. P. 245–255.

33. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine // Fertil. Steril. 2014. Vol. 101, № 4. P. 927–935.

34. Von Rokitansky C. Ueber uterusdrüsenneubildung in uterus und ovarialsarcomen // Z Ges Aerzte Wein. 1860. Vol. 37. P. 577–581.

28. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. Ann. NYAcad. Sci. 2002;955:11-22.

29. Laufer MR, Sanfilippo J, Rose G. Adolescent endometriosis: diagnosis and treatment approaches. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2003;16(3):3-11.

30. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. Am. J. Obstet Gynecol. 1927;14:422-69.

31. Sauvan M, Chabbert-Buffet N, Geoffron S, Legendre G, Wattier JM, Fernandez H. Management of painful endometriosis in adolescents: CNGOF-HAS Endometriosis Guidelines. Gynecol. Obstet. Fertil. Senol. 2018;46(3):264-6.

32. Siposan DG, Bobe. Effects of HeNe laser on stored blood. Laser therapy. 2010;19(4):245-5.

33. Treatment of pelvic pain associated with endometriosis: a committee opinion. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertil. Steril. 2014;101(4):927-35.

34. Von Rokitansky C. Ueber uterusdrüsenneubildung in uterus und ovarialsarcomen. Z Ges Aerzte Wein. 1860;37:577-81.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 76–82

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 76–82

УДК: 796.034-053.63-79 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16100

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ ДЕТСКО-ЮНОШЕСКОГО СПОРТА

С.Ю. ЗОЛИЧЕВА, А.В. ТАРАСОВ, О.И. БЕЛИЧЕНКО, А.В. СМОЛЕНСКИЙ

ГБОУ ВО «Российский государственный университет физической культуры, спорта, молодежи и туризма (ГЦОЛИФК)», Сиреневый бульвар, д. 4, г. Москва, 105122, Россия

Аннотация. В статье рассматриваются принципы отбора детей для занятий спортом и особенности построения тренировочного процесса у юных спортсменов. Здоровье детей и подростков является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Ведь именно здоровье подрастающего поколения определяет будущее страны, Однако мониторинг состояния здоровья детского населения, особенно учащихся, выявляет стойкую тенденцию ухудшения его показателей: Именно в детском и подростковом возрасте закладываются основы здоровья и физического развития человека, а приобретенные в этом периоде нарушения в здоровье оказываются наиболее стойкими. Известно что регулярные занятия физическими упражнениями особенно важны в процессе роста и формирования организма Однако в связи с ранней спортивной специализацией и широким использованием больших по объему и интенсивности тренировочных нагрузок проблемы медицинского обеспечения детского и юношеского спорта становятся все более актуальными. В процессе подготовки юных спортсменов должны быть решены оздоровительные, воспитательные и спортивные задачи. Именно в периоде роста и формирования организма, как в никаком друг~~ом~~, требуется строго индивидуальный подход тренера и врача к юным спортсменам.. Это объясняется большими различиями в темпах и продолжительности отдельных этапов роста и созревания (общего и полового) . Разнообразность, постепенность и достаточный интерес ребенка к занятиям, рациональное сочетание разносторонних и специальных упражнений обеспечат сохранение и укрепление здоровья, правильное развитие, последующее спортивное совершенствование и долголетие.

Ключевые слова: здоровье детей и подростков, гармоничное развитие ребенка, индекс здоровья, акселерация, «биологический» возраст ребенка, медицинское обеспечение детского и юношеского спорта.

Здоровье детей и подростков является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Ведь именно здоровье подрастающего поколения определяет будущее страны, генофонд нации, научный и экономический потенциал общества и, наряду с другими демографическими показателями, является чутким барометром социально-экономического развития государства [1-4,6,8].

Однако мониторинг состояния здоровья детского населения, особенно учащихся, выявляет стойкую тенденцию ухудшения его показателей: уменьшается удельный вес здоровых школьников, в процессе обучения одновременно увеличиваются хронически~~же~~ формы заболеваний, снижается индекс здоровья [4,7-9,12].

Несмотря на пристальное внимание со стороны государства к вопросам оздоровления подрастающего поколения, по данным НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, количество здоровых детей снизижается. Как свидетельствует статистика, распространенность патологии и заболеваемости среди детей в возрасте от 3-х до 17-ти лет ежегодно увеличивается на 4-5% [4,8,11,12].

Здоровыми можно назвать всего лишь 10% от общего количества учеников, а остальные 90% имеют проблемы и отклонения в физическом, психологическом, нервном развитии. Статистические данные показывают, что в нашей стране из года в год снижается индекс здоровья и увеличивается общая заболеваемость детей и подростков.

Причин сложившейся ситуации несколько и многие из них связаны со школой. К основным школьно-обусловленным факторам риска формирования здоровья учащихся, в первую очередь, относятся:

– несоблюдение санитарно-эпидемиологического благополучия в образовательных учреждениях,

– неполноценное питание школьников,

– несоблюдение гигиенических нормативов режима учебы и отдыха, сна и пребывания на воздухе.

Кроме того, объем учебных программ, их информативная насыщенность часто не соответствуют функционально-возрастным возможностям школьников. До 80% учеников постоянно или периодически испытывают учебный стресс. На здоровье также отрицательно сказывается низкая двигательная активность. Ее дефицит уже в младших классах составляет 35-40%, а среди старшеклассников – 75-85% [5,10,12].

Все это в сочетании оказывает негативное воздействие на развивающийся организм.

Регулярные занятия физическими упражнениями особенно важны в процессе роста и формирования организма. Именно в детском и подростковом возрасте закладываются основы здоровья и физического развития человека, а приобретенные в этом периоде нарушения в здоровье оказываются наиболее стойкими.

Интерес к спорту у детей и подростков очень велик. Чем раньше ребенок начинает заниматься спортом, тем эффективнее физическое воздействие его на организм. Тренировка ускоряет физиологическую и психологическую зрелость ребенка, способствует развитию адаптационных механизмов, укреплению здоровья, разностороннему физическому и умственному развитию, повышению сопротивляемости и иммунологической реактивности.

В последние годы изменились и взгляды на раннюю спортивную специализацию. Доказано, что при полноценном отборе, квалифицированном врачебно-педагогическом контроле (с учетом особенностей вида спорта и требований, предъявляемых к организму) занятие спортом, несомненно, приносят пользу. Тренировки с элементами специализации стимулируют разностороннее развитие и формирование организма, но лишь при соблюдении важного условия – чем младше возраст начинающего спортсмена, тем больший удельный вес в его подготовке должны занимать различные, соответствующие возрасту средства общефизической подготовки, игры и тем меньше специальные, свойственные конкретному виду спорта упражнения. Только разнообразность, постепенность и достаточный интерес ребенка к занятиям, рациональное сочетание разносторонних и специальных упражнений обеспечат сохранение и укрепление здоровья, правильное развитие, последующее спортивное совершенствование и долголетие [13].

В настоящее время в связи с ранней спортивной специализацией и широким использованием больших по объему и интенсивности тренировочных нагрузок проблемы медицинского обеспечения детского и юношеского спорта становятся все более актуальными [15].

Однако при работе с юными спортсменами, далеко не всегда учитываются особенности течения (и соответственно диагностики) ряда заболеваний детского возраста, роль в этом наследственной предрасположенности, факторов пре- и постнатального периодов, реактивности организма, иммунитета и т. п.

Непрерывно растущий организм ребенка, в отличие от уже сформировавшегося взрослого, отличается рядом морфологических, функциональных и адаптационных особенностей, и если недооценить этот фактор, то можно не только затормозить рост спортивных результатов, но и привести к серьезным нарушениям здоровья и физического развития [13,14].

Необходимо учитывать, что растущий организм развивается индивидуально. Часто физическое и умственное созревание, функциональная зрелость двигательного аппарата и внутренних органов, общее состояние организма, все что характеризует «биологический» возраст ребенка, не согласуется с паспортным возрастом, опережая его, или, наоборот отставая [10, 13, 16].

В процессе подготовки юных спортсменов должны быть решены оздоровительные, воспитательные и спортивные задачи. Для обеспечения достаточного эффекта тренировки детей и подростков следует учитывать следующие особенности их организма:

– возрастные особенности;

– динамику возрастного развития;

– динамику развития основных физических качеств;

– особенности периода полового созревания;

– индивидуальные особенности ребенка .

На этой основе должны строиться отбор, тренировка, режим и врачебно-педагогический контроль. При этом необходимо учитывать, что хотя тренированный юный организм очень пластичен и способен выдерживать значительные нагрузки, но грубое вмешательство в законы развития может привести к весьма неблагоприятным последствиям, затормозить, а порой и сделать вообще невозможным дальнейшее спортивное совершенствование.

Актуальным до настоящего времени остает-

ся вопрос, в каком возрасте следует привлекать детей к занятиям спортом. В ответе на него у специалистов нет единого мнения. Сегодня существуют разработанные Минздравом России рекомендации по возрастным срокам для начала занятий различными видами спорта.

У детей адаптация к физическим нагрузкам менее эффективна, чем у взрослого человека, – менее экономичная и более напряженная деятельность кровообращения, дыхания и вегетативных систем; увеличение минутного объема крови, в основном за счет возрастания частоты сердечных сокращений, а не ударного объема; менее экономный расход энергии; больший кислородный долг при меньшей возможности его удовлетворения; более частые нарушения сердечного ритма и сократительной способности миокарда; меньшая способность к мобилизации функции при больших и особенно предельных нагрузках; более медленное течение процессов восстановления. У них часто обнаруживаются атипические реакции (особенно дистоническая, ступенчатая, гипертоническая) на физическую нагрузку.

Формирование организма у юных спортсменов происходит быстрее, чем у детей, не занимающихся спортом, с меньшим числом отклонений. По всем параметрам физического развития и подготовленности юные спортсмены имеют существенные преимущества перед учащимися, занимающимися только по школьной программе.

Акселерация проявляется не только более быстрыми темпами увеличения размеров тела, но и более ранним половым созреванием. Однако это не сопровождается соответствующим уровнем психологической зрелости. Кроме того, у части школьников отмечается более частая заболеваемость, неустойчивость, ранимость и другие изменения психики. Различают гармоничную (равномерную) зрелость различных звеньев двигательного аппарата и внутренних органов (без дефектов и дисгармонии, большой годовой прирост, большие возможности органов и систем, более быстрое развитие качеств) и негармоничную (неравномерное развитие отдельных показателей физического развития, несоответствие росту развитие сердца и других внутренних органов, частая заболеваемость, ранимость, неустойчивость работоспособности и другое) акселерацию. Поэтому стремление преподавателей ряда видов спорта (в первую очередь баскетбол, волейбол, прыжки и др.) включать таких спортсменов в команды не всегда оправданно, и они должны в каждом отдельном случае консультироваться с врачом.

Ретардация – замедление роста и физического развития также неоднозначны. Кроме того, необходимо помнит, что это явление может быть временным, в дальнейшем такой ребенок или подросток может по всем показателям не только догнать, но и перегнать своих сверстников.

Как уже отмечалось, организм школьника по своим анатомо-физиологическим и функциональным возможностям отличается от организма взрослого человека. Дети более чувствительны к факторам внешней среды (перегреванию, переохлаждению и др.) и хуже переносят физические нагрузки, особенно длительные (бег, кроссы и др.). Поэтому правильно спланированные занятия, дозированные по времени и сложности, способствуют гармоничному развитию ребенка, и наоборот, ранняя специализация (интенсивные нагрузки в одном виде спорта), достижение результатов любой ценой часто ведут к травматизму и серьезным заболеваниям, тормозят рост и развитие.

В периоде роста и формирования организма, как в никаком друг~~ом~~, требуется строго индивидуальый подход тренера и врача к юным спортсменам. Это объясняется большими различиями в темпах и продолжительности отдельных этапов роста и созревания (общего и полового), сопровождающихся различиями в их состоянии здоровья, функциональных и психологических особенностей, переносимости нагрузок, быстроты восстановления и двигательной одаренности и др. Стандартный подход в подборе нагрузок, их объема и интенсивности, способа общения с подопечными, режима труда, тренировки и отдыха, методов восстановления и т. д. не только снижает эффективность тренировки, но и может привести к перегрузке, нервным срывам, потере интереса к тренировке и, в конце концов, к уходу перспективного ребенка из спорта.

Следует помнить, что индивидуальные особенности – это сочетание и взаимообусловленность генетических и средовых факторов (условия и образ жизни, характерные различные воздействия в течение жизни, отношения с людьми, заболевания и пр.), в то время как генетические особенности влияют на здоровье человека, тип телосложения, внешность, при-

вычки, характер, способности, двигательную и умственную одаренность и многое другое. К генетическим факторам в определенной мере можно отнести длину тела, состав мышечных волокон, аэробные возможности, максимальное потребление кислорода, склонность к определенным видам заболеваний (гемофилия, гипертония, атеросклероз, онкология и др.). Масса тела, вегетативные функции, реакция на нагрузку, тренированность, восстановление и т. д., которые, скорее всего, зависят от воздействия среды. Поэтому врачу и тренеру надо хорошо знать родителей и семью ребенка, уровень их физического и умственного развития, отношение к спорту, выявить имевшиеся заболевания в семье и у ближайших родственников, причины смерти и ранние смерти в семье. Такую информацию можно получить в ходе личных беседах, путем заполнения анкеты и другими способами.

Но необходимо иметь в виду, что высокие спортивные результаты достигнутые в юном возрасте – это отнюдь не физиологическая закономерность, а в первую очередь результат таланта, генетической одаренности, и очень сильного характера, высочайшей психологической устойчивости. Однако, к сожалению, такие результаты очень редко бывают стабильными, а учитывая те физические нагрузки, которые испытывает неокрепший организм для их достижения – вряд ли способствуют укреплению здоровья ребенка. На одном из последних международных конгрессов по спортивной медицине в целой серии докладов, посвященных данной проблеме, было убедительно показано, что форсированное достижение раннего спортивного результата с применением высоких нагрузок не только не будет устойчивым, но и ведет к перегрузке, нарушениям здоровья и, в конце концов, к раннему уходу из спорта. Только постепенное, осторожное наращивание нагрузок обеспечивает здоровье, высокую тренированность и устойчивый результат. И не случайно вспыхнувшие в раннем возрасте «звездочки» далеко не всегда становятся в дальнейшем звездами большого спорта. Недавним примером может служить спортивная судьба фигуристки Юлии Лепницкой, которая в 15 лет стала Олимпийской чемпионкой Сочи, а в 19 – уже завершила свою карьеру, так и не показав других выдающихся достижений. То есть высокие результаты юных отнюдь не являются решающими для прогноза его достижений в будущем.

В заключение можно еще раз подчеркнуть, что главным в тренировке спортсменов младших возрастов должна быть разносторонность, эмоциональность, преимущественно игровая форма, введение элементов специализации в соответствии с периодами и темпами формирования организма и только затем взрослыми закономерностями развития физических качеств.

До достижения должного совершенствования вегетативных функций и потребления кислорода, а тем самым достаточной готовности к аэробной работе, ребенок лучше адаптируется к кратковременным эмоциональным нагрузкам с переключениями. При длительной работе дети быстрее устают, у них чаще регистрируются признаки перегрузки и снижения интереса к занятиям.

Раньше всего полезно начинать упражнения на быстроту, технику, гибкость, подвижность в суставах, координацию.

К факторам риска в тренировке юных спортсменов можно отнести:

– нагрузки, не соответствующие возрасту и уровню подготовленности;

– узкоспециализированную тренировку на ранних этапах спортивной специализации;

– одностороннюю раннюю спортивную специализацию, которая неизбежно усиливает неравномерное развитие, появление различных дефектов и отклонений;

– использование упражнений, усиливающих неравномерное развитие мышц и возникновение различных деформаций (мышцы еще слабо фиксируют позвоночник, связочный аппарат очень эластичен, что при раннем и чрезмерном использовании силовых и статических упражнений могут оказаться небезвредными);

– чрезмерное утомление на занятиях и отсутствие должного восстановления;

– одностороннее развитие двигательной сферы (усиливает отставание развития вегетативных систем);

– форсированную и неритмичную тренировку со стремлением к раннему достижению высоких результатов;

– неправильные тренировки в период активного полового созревания;

– отсутствие заинтересованности и мотивации;

– совместную тренировку с взрослыми спортсменами;

– недооценку значения биологического

возраста;

– монотонность;

– нарушения режима жизни, питания, отдыха;

– отсутствие регулярного контроля или неучет в тренировке его результатов;

– отсутствие или снижения интереса к занятиям;

– отсутствие психологической разгрузки;

неправильный отбор.

MODERN VIEW OF SOME CHILDREN AND YOUTH SPORTS PROBLEMS

S.YU. ZOLICHEVA, A.V. TARASOV, O.I. BELICHENKO, A.V. SMOLENSKY

Russian State University of Physical Culture, Sport, Youth and Tourism, Sirenevy Boulevard, 4, Moscow, 105122, Russia

Abstract. The article deals with the principles of selecting children for sports and the features of building a training process for young athletes. The health of children and adolescents is one of the most urgent problems of modern medicine. Indeed, it is the health of the younger generation that determines the future of the country. However, the monitoring of the health status of children, especially students, reveals a persistent tendency to worsen its indicators. It is in childhood and adolescence that the foundations of human health and physical development are laid, and the health disorders acquired in this period are the most persistent. It is known that regular exercise is especially important in the process of growth and formation of the body. However, in connection with the early sports specialization and extensive use of large in terms of volume and intensity of training loads, the problems of medical provision of children's and youth sports are becoming more urgent. In the process of training young athletes should be resolved health, educational and sporting tasks. It is during the period of growth and formation of the organism, as in no other, that a strictly individual approach of the trainer and doctor to young athletes is required. This is due to large differences in the pace and duration of individual stages of growth and maturation (general and sexual). The variety, gradualness and sufficient interest of the child to study, the rational combination of versatile and special exercises will ensure the preservation and strengthening of health, proper development, subsequent sporting improvement and longevity.

Key words: health of children and adolescents, harmonious development of the child, health index, acceleration, the «biological» age of the child, medical provision of children's and youth sports.

Литература

1. Аветисян Л.Р., Кочарова С.Г. Изучение влияния повышенной учебной нагрузки на состояние здоровья учащихся // Гигиена и санитария. 2001. № 1. С. 48–49.

2. Адамова М.В., Ловицкий В.Д. Педагогические проблемы здоровья и медицинские задачи в педагогике // Объединенный научный журнал. 2002. № 10. С. 32–34.

3. Баранов А.А., Лапин Ю.Е. Государственная политика в области охраны здоровья детей: вопросы теории и практика. М.: Союз педиатров России, 2009. 188 с.

4. Безруких М.М. Здоровьесберегающая школа. М.: МГПИ, 2008. 222 с.

References

1. Avetisyan LP, Kocharova SG. Izuchenie vliyaniya povyshennoj uchebnoj nagruzki na sostoyanie zdorov'ya uchashchihsya [The study of the impact of increased workload on the health of students]. Gigiena i sanitariya. 2001;1:48-9. Russian.

2. Adamova MV, Lovickij VD. Pedagogicheskie problemy zdorov'ya i medicinskie zadachi v pedagogike [Pedagogical health problems and medical problems in pedagogy]. Ob"edinennyj nauchnyj zhurnal. 2002;10:32-4. Russian.

3. Baranov AA, Lapin YUE. Gosudarstvennaya politika v oblasti ohrany zdorov'ya detej: voprosy teorii i praktika [State policy in the field of children's health: theory and practice]. Moscow: Soyuz pediatrov Rossii; 2009. Russian.

4. Bezrukih MM. Zdorov'esberegayushchaya shkola [Health saving school]. Moscow: MGPI; 2008. Russian.

5. ВОЗ. Глобальная стратегия по питанию, физической активности и здоровью. Женева: ВОЗ, 2004.

6. Детская спортивная медицина: учеб. пособие / под ред. Т.Г. Авдеевой, И.И. Бахраха. Изд. 4-е, испр. и доп. Ростов н/Д: Феникс, 2007. 319 с.

7. Здоровье подростков и школьников. URL: http://www.cdc.gov/ nccdphp/dash/ Дата обращения: 10.10.2012.

8. Здоровые дети России в XXI веке / Онищенко Г.Г. [и др.] / под ред. акад. РАМН А.А. Баранова, проф. В.Р. Кучмы. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. 159 с.

9. Золичева С.Ю., Мозжухина Е.А. Мониторинг состояния здоровья детей и подростков и медицинские аспекты коррекции «индекса здоровья» // Материалы международной научно-практической конференции «Теоретические и практические аспекты здорового образа жизни». Одесса, 2016. С. 70–79.

10. Золичева С.Ю., Тарасов А.В., Беличенко О.И. Физическая культура и спорт как основа здорового образа жизни подрастающего поколения // Материалы 2-й международной научно-практической конференции «Теоретические и практические аспекты здорового образа жизни». Одесса, 2017. С. 249–252.

11. Приказ МЗ РФ № 621 от 30.12.2003 «О комплексной оценке состояния здоровья детей». URL: http://www.worklib.ru/ Дата обращения: 04.11.2012.

12. Проведение мониторинга состояния здоровья детей и подростков и организация их оздоровления: метод. рекомендации / Баранов А.А., Кучма В.Р., Сухарева Л.М. [и др.]. М.: Минздравсоцразвития России, 2006. 47 с.

5. VOZ. Global'naya strategiya po pitaniyu, fizicheskoj aktivnosti i zdorov'yu [WHO. Global strategy on nutrition, physical activity and health]. ZHeneva: VOZ; 2004. Russian.

6. Detskaya sportivnaya medicina: uchebnoe posobie. Pod redakciej T.G. Avdeevoj, I.I. Bahraha. Izdanie 4, ispravlennoe i dopolnennoe [Children's sports medicine: textbook. Edited by T. G. Avdeeva, I. I. Bakhrakh. Edition 4, amended and supplemented]. Rostov n/D: Feniks; 2007. Russian.

7. Zdorov'e podrostkov i shkol'nikov [Health of adolescents and schoolchildren]. URL: http://www.cdc.gov/ nccdphp/dash/. Russian.

8. Onishchenko GG, et al. Zdorovye deti Rossii v XXI veke. pod redakciej akademika RAMN A.A. Baranova, professora V.R. Kuchmy [Healthy children of Russia in the XXI century. under the editorship of RAMS academician A. A. Baranov, Professor V. R. Kuchma]. Moscow: Federal'nyj centr Gossanehpidnadzora Minzdrava Rossii; 2000. Russian.

9. Zolicheva SYU, Mozzhuhina EA. Monitoring sostoyaniya zdorov'ya detej i podrostkov i medicinskie aspekty korrekcii «indeksa zdorov'ya». Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Teoreticheskie i prakticheskie aspekty zdorovogo obraza zhizni» [Monitoring of the health status of children and adolescents and medical aspects of the correction of the "health index". Materials of the international scientific and practical conference " Theoretical and practical aspects of a healthy lifestyle»]. Odessa; 2016. Russian.

10. Zolicheva SYU, Tarasov AV, Belichenko OI. Fizicheskaya kul'tura i sport kak osnova zdorovogo obraza zhizni podrastayushchego pokoleniya. Materialy 2-j mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Teoreticheskie i prakticheskie aspekty zdorovogo obraza zhizni» [Physical culture and sport as the basis of healthy lifestyle of the younger generation. Materials of the 2nd international scientific-practical conference " Theoretical and practical aspects of a healthy lifestyle»]. Odessa; 2017. Russian.

11. Ministry of health order № 621 dated 30.12.2003 "On the comprehensive evaluation of the health status of children". URL: http://www.worklib.ru/ date accessed: 04.11.2012. Russian.

12. Baranov AA, Kuchma VR, Suhareva LM, et al. Provedenie monitoringa sostoyaniya zdorov'ya detej i podrostkov i organizaciya ih ozdorovleniya: metod. Rekomendacii [Monitoring the health of children and adolescents and the organization of their health: method. Recommendations]. Moscow: Minzdravsocraz-

13. Тихвинский С.В., Хрущев С.В. Детская спортивная медицина. М.: Медицина, 1991.

14. Смоленский А.В., Михайлова А.В., Беличенко О.И. Спортивная медицина: учебник для студ. учреждений высш. образования; под ред. А.В. Смоленского. М.: Издательский центр «Академия», 2015. 320 с.

15. Справочник детского спортивного врача: клинические аспекты. М.: Советский спорт, 2008. С. 440.

16. Физиология развития ребенка: руковод. по возрастной физиологии: учеб. пособие: рекомен. ред.-издат. советом Рос. акад. образования / под ред. М.М. Безруких, Д.А. Фарбер; Рос. акад. образования Москов. психолого-соц. ин-т. – М.: МПСИ - Воронеж: МОДЭК, 2010. 767 с.

vitiya Rossii; 2006. Russian.

13. Tihvinskij SV, Hrushchev SV. Detskaya sportivnaya medicina [Children's sports medicine]. Moscow: Medicina; 1991. Russian.

14. Smolenskij AV, Mihajlova AV, Belichenko OI. Sportivnaya medicina: uchebnik dlya stud. uchrezhdenij vyssh. Obrazovaniya. Pod redakciej A.V. Smolenskogo [Sports medicine: textbook for students. institutions higher. Educations. Edited by A. V. Smolensky.]. Moscow: Izdatel'skij centr «Akademiya»; 2015. Russian.

15. Spravochnik detskogo sportivnogo vracha: klinicheskie aspekty [Handbook of children's sports physician: clinical aspects]. Moscow: Sovetskij sport; 2008. Russian.

16. Fiziologiya razvitiya rebenka: rukovod. po vozrastnoj fiziologii: ucheb. posobie: rekomen. red.-izdat. sovetom Ros. akad. Obrazovaniya. pod red. M.M. Bezrukih, D.A. Farber; Ros. akad. obrazovaniya Moskov. psihologo-soc. in-t [Physiology of child development: guide. on age physiology: studies. benefit: recommended. ed. - published. the Council Grew. Acad. Educations. ed. by M. M. Bezrukikh, D. A. Farber; ROS. Acad. education Muscovites. psycho-social. in-T.]. Moscow: MPSI - Voronezh: MODEHK; 2010. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 83–86
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 83–86

УДК: 547.3-02:577.121.7

ДЛИТЕЛЬНОЕ ПОСТУПЛЕНИЕ В ОРГАНИЗМ НЕТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ БЕНЗОЛА ПРИВОДИТ К РАЗВИТИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Н.В. ШАРАПОВА, Д.С. КАРМАНОВА, А.А. ПЕТРОВА, С.И. КРАСИКОВ

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Советская, д. 6, г. Оренбург, 460000, Россия

Аннотация. Влияние нетоксических доз бензола на состояние компонентов системы свободнорадикального окисления экспериментальных животных оценивали с помощью определения активности и содержания таких веществ как супероксиддисмутаза, каталаза, диеновые коньюгаты и малоновый диальдегид. Животным основной группы (*n*=12) в питьевой воде содержание бензола доводили до концентрации 0,015 мг/л, что соответствовала 0,5 ПДК. Группа сравнения (*n*=12) получала стандартное питание. Продолжительность эксперимента составила 7 недель

Потребление животными воды, содержащей бензол, приводило к снижению активности СОД и каталазы в эритроцитах животных на 27% и 49%, соответственно. Содержание ДК в сыворотке при этом существенно не менялось, а уровень МДА увеличивался в 1,64 раза от уровня контрольных животных. В печени наблюдалось повышение активности СОД и каталазы в 2 и 3 раза. В сердце – снижение активности СОД на 25% и увеличении активности каталазы в 3,6 раза. Содержание ДК и МДА при этом увеличивалось в 1,7 и 1,75 раза соответственно от уровня контроля. В семенниках было отмечено снижение активности СОД и каталазы на 37% и 17%, соответственно, а также увеличение МДА в 1,37 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, потребление животными воды, содержащей бензол в дозах ниже ПДК, приводило к накоплению в тканях и сыворотке крови продуктов перекисного окисления липидов: диеновых коньюгатов и малонового диальдегида с одновременным изменением активности СОД и каталазы.

Ключевые слова: бензол, токсичность, окислительный стресс.

Введение. Ранее показано, что хроническое поступление в организм бензола в дозах превышающих *предельно допустимые концентрации* (ПДК) приводит к развитию окислительного стресса [1,3,12]. Развитие окислительного стресса при этом объясняется в связи с особенностями метаболизма бензола, который происходит в микросомах печени при участии цитохрома P_{450} с образованием активных форм кислорода [6,8,16]. Поскольку биотрансформация ксенобиотиков осуществляется вне зависимости от их количества, поступающего в организм, есть основания считать, что и малые дозы бензола, то есть такие, которые присутствуют в окружающей среде в дозах, ниже ПДК, и расцениваются как «нетоксичные», также будут подвергаться метаболизму с образованием активных форм кислорода, что в свою очередь будет приводить к развитию окислительного стресса [5,7,9]. Однако данный вопрос требует изучения, и, в первую очередь, экспериментального подтверждения, что и послужило основанием для проведения настоящей работы.

Цель исследования – на основании лабораторных анализов жидких сред организма и органных комплексом экспериментально оценить влияние нетоксических доз бензола на состояние компонентов системы свободнорадикального окисления.

Задачи: 1) В эксперименте на лабораторных животных оценить влияние нетоксических доз бензола на интенсивность процессов свободнорадикального окисления в крови; 2) В эксперименте на лабораторных животных оценить влияние нетоксических доз бензола на интенсивность процессов свободнорадикального окисления в печени, сердце и семенниках; 3) В эксперименте на лабораторных животных сопоставить влияние нетоксических доз бензола на активность антиоксидантных ферментов с одной стороны и изменение концентрации продуктов перекисного окисления с другой стороны.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на 24 крысах самцах линии Вистар. Животные содержались в виварии с соблюдением циклов день/ночь – 12:12 и на сбалансированной диете (гранулированный корм для лабораторных животных «ПроКорм», Компания БиоПро) для питья животным давали бутилированную воду из местного артезианского источника. В течение всего эксперимента животным был обеспечен неограниченный доступ к воде и пище.

Все животные были разделены на две, равные по численности группы. Животные первой группы служили контролем.

У животных второй группы питьевая вода содержала бензол в концентрации 0,015 мг/л, что соответствует 0,5 ПДК. Продолжительность эксперимента составила 7 недель, после чего животных с соблюдением этических норм и правил работы с лабораторными животными выводили из эксперимента, подвергая эвтаназии путем декапитации. Кровь и внутренние органы забирались и использовались для биохимических исследований. В сыворотке крови, полученной после центрифугирования при 3000 об/мин, определяли содержание *диеновых коньюгатов* (ДК) по методу *Z. Placer*, (1968), малонового диальдегида по реакции с тиобарбитуровой кислотой (*H. Ohkawa*, 1978) на спектрофотометре *Beckman - DU 800 (USA*), а также активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы на биохимической станции *Cobas*-6000 (Швейцария).

Внутренние органы – печень, сердце, селезенка измельчали с помощью гомогенизатора (*Heidolph SilentCrusher M*) в 0,15 М трис-*HCl* буфера (*pH*=7,4) в соотношении 1/10 и не разрушающим ткани и ядра клеток осаждением при 500 *g*. В полученных супернатантах определяли содержание продуктов *перекисного окисления липидов* (ПОЛ) и активность антиоксидантных ферментов по тем же, что и в сыворотке крови методам.

Экспериментальные исследования проводили, руководствуясь требованиями, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986 г.) и в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) с соблюдением этических норм и гуманного отношения к объектам изучения и с одобрения этического комитета Центра.

Полученные результаты проводимых исследований обрабатывали методами параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента, принимая критический уровень значимости $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования показали, что количество потребляемой воды в течение эксперимента животными контрольной и опытной группы было примерно одинаковым и увеличивалось по мере увеличения массы животного. Общее количество бензола, поступающее в организм крыс, составило $0,15\times10^{-4}$мг в пересчете на килограмм массы животного, т.е. суммарно было значительно ниже дозы LD_{50} и находилось за пределами токсичности данного поллютанта.

В табл. представлены данные отражающие состояние окислительного стресса у контрольных и опытных животных. Из материалов таблицы следует, что длительное потребление животными воды, содержащей бензол, приводило к снижению активности *супероксиддисмутазы* (СОД) и каталазы в эритроцитах животных на 27% и 49%, соответственно. Содержание ДК в сыворотке при этом существенно не менялось, а уровень *малонового диальдегида* (МДА) увеличивался в 1,64 раза от уровня контрольных животных.

Таблица

Влияние малых доз бензола на активность антиоксидантных ферментов и продуктов ПОЛ у животных

Ткань, орган	Группа животных	СОД, *ед/литр*	Каталаза *ед/литр*	ДК	МДА
Кровь	Контроль	138±13,4	77±7,9	0,095±0,022	63,5±2,8*
	Бензол	101±9,5	38±5,1*	0,086±0,023	104,3±17,3*
Печень	Контроль	11,9±3,1	59,3±6,0	0,22±0,03	0,53±0,07
	Бензол	21,9±4,1*	183,4±10,0**	0,25±0,02	0,56±0,11
Сердце	Контроль	22,8±1,8	19,9±1,3	0,59±0,14	0,39±0,06
	Бензол	17,2±1,6*	71,8±4,1**	1,01±0,13*	0,68±0,16
Семенники	Контроль	37,9±3,2	74,2±4,9	0,6±0,14	0,49±0,06
	Бензол	23,9±2,4**	62,2±3,4*	0,57±0,07	0,67±0,08

Примечание: * – $p<0,05$ по сравнению с контролем, ** – $p<0,05$ по сравнению с контролем

Состояние параметров окислительного стресса в печени характеризовалось повышением активности СОД и каталазы в 2 и 3 раза соответственно у животных, получавших бензол по сравнению с контролем и практически одинаковыми изменениями концентрации ДК и МДА у интактных и опытных животных.

Изменение активности антиокислительных ферментов в сердце носили разнонаправленный характер и заключались в снижении активности СОД на 25% и увеличении активности каталазы в 3,6 раза от контрольного уровня. Содержание ДК и МДА при этом увеличивалось в 1,7 и 1,75 раза соответственно от уровня контроля.

Менее выраженными были изменения, происходящие под влиянием бензола в семенниках, и проявлялось снижением активности СОД и каталазы на 37% и 17%, соответственно, а также увеличением МДА в 1,37 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что длительное введение в организм бензола в нетоксичной дозе приводило к изменению активности антиокси-

дантных ферментов с одной стороны и увеличению концентраций продуктов перекисного окисления в тканях экспериментальных животных.

Эти изменения имеют различный характер, связаны с видом исследуемой ткани, что наиболее вероятно связано с отношением внутренних органов к метаболизму ксенобиотика. В частности, наблюдаемые в печени повышение активности СОД и каталазы, вероятно связанно с тем, что образующиеся в процессе метаболизма бензола активные формы кислорода, являются фактором, регулирующим процессы биосинтеза ферментов антирадикальной защиты [10].

В плане нашего исследования наиболее существенным является установленный факт, свидетельствующий, что под влиянием весьма незначительных доз бензола происходят изменения как в системе антиоксидантной защиты, так и активации свободнорадикальных процессов, проявляющееся накоплением продуктов перекисного окисления липидов, в частности, ответственных как за жизнеобеспечение организма, так и за репродуктивную функцию.

Поскольку хорошо известно, что окислительный стресс является одним из важнейших патогенетических звеньев в развитии очень широкого спектра заболеваний, есть основание думать о возможной роли следовых количеств поллютантов, в частности, бензола, в их возникновении [9,11,13-15].

Изложенное выше позволяет прийти к следующим **выводам**:

1. Теоретический, заключается в необходимости исследования роли поллютантов в возникновении различных заболеваний у человека, особенно тех, которые определяются как «идиопатические».

2. Практический, обосновывает необходимость применения широкого спектра мероприятий, направленных на выявление признаков окислительного стресса у людей и на ограничении его последствий на организм. Это может быть достигнуто путем рекомендации использования в пищу продуктов, богатых антиоксидантами, приемом препаратов и витаминов, обладающих антирадикальной активностью, а также снижением потребления веществ, с прооксидантной активностью.

A LONG-TERM INSTITUTION IN THE ORGANISM OF NOXOXIC DOSES OF BENZENE CAUSES THE DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS

N.V. SHARAPOVA, D.S. KARMANOVA, A.A. PETROVA, S.I. KRASIKOV

FBSEI HE "Orenburg State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 6 Sovetskay St., Orenburg, 460000, Russia

Abstract. The effect of non-toxic doses of benzene on the state of components of the free-radical oxidation system of experimental animals was assessed by determining the activity and content of such substances as superoxide dismutase, catalase, diene conjugates, and malonic dialdehyde. The content of benzene in the main group (*n*=12) in drinking water was adjusted to a concentration of 0,015 mg / l, which corresponded to 0,5 MPC. The comparison group (*n*=12) received standard food. The duration of the experiment was 7 weeks.

The consumption of water containing benzene by animals resulted in a decrease in the activity of SOD and catalase in the erythrocytes of animals by 27% and 49%, respectively. The content of DC in the serum did not change significantly, and the MDA level increased 1,64 times from the control animals. In the liver, an increase in the activity of SOD and catalase in 2 and 3 times was observed. In the heart - a decrease in the activity of SOD by 25% and an increase in catalase activity by 3,6 times. The content of DK and MDA at the same time increased by 1.7 and 1,75 times, respectively, from the control level. In the testes, there was a decrease in the activity of SOD and catalase by 37% and 17%, respectively, and an increase in MDA of 1,37 times compared with the control.

Thus, animal consumption of water containing benzene at doses below the MPC resulted in the accumulation in the tissues and serum of blood products of lipid peroxidation: diene conjugates and malonic dialdehyde with a simultaneous change in the activity of SOD and catalase.

Key words: benzene, toxicity, oxidative stress.

Литература

1. Angela M. Moro, Natália Brucker, Mariele F. Charão. Biomonitoring of gasoline station attendants exposed to benzene: Effect of gende.r Mutation Re-

References

1. Angela M Moro, Natália Brucker, Mariele F Charão. Biomonitoring of gasoline station attendants exposed to benzene: Effect of gende.r Mutation Re-

search // Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2017. Vol. 813. P. 1–9.

2. Barreto G. The role of catechols and free radicals in benzene toxicity: an oxidative DNA damage pathway // Environ. Mol. Mutagen. 2009. Vol. 50 (9). P. 771–780.

3. Carbonari D. Biomarkers of susceptibility following benzene exposure: influence of genetic polymorphisms on benzene metabolism and health effects // Biomark Med. 2016. Vol. 10(2). P. 145–163.

4. El-Shakour A.A. El-Mekawy Effect of exposure to Benzene on oxidative stress and the functions of liver and kidney in rats // J Environ Occup Sci. 2015. Vol. 4 (1). P. 34–39.

5. Fenga C. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workers exposed to low-dose benzene // Toxicology Reports. 2017. Vol. 4. P. 291–295.

6. Hoet P. . Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors // Biomark Med. 2016. Vol. 10 (2). P. 145–163.

7. Int Arch Occup Environ Health. 2009. Vol. 82(8). P. 985–995. DOI: 10.1007/s00420-008-0381-6. Epub 2008 Nov 14.

8. Fenga C. Low-dose occupational exposure to benzene and signal transduction pathways involved in the regulation of cellular response to oxidative stress // Life Sciences. 2016. Vol. 147. P. 67–70.

9. Lovreglio P. Monitoring of the occupational and environmental exposure to low doses of benzene. // Giornale Italiano di Medicina del Lavoro Ed Ergonomia. 2013. Vol. 35 (4). P. 251–255.

10. Toxicological Profile for Benzene: NTIS Accession. No. PB98–101157. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 1997. 459 p.

11. Toxicological Profile for Benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, 2007. 438 p.

12. Vigliani E.C., Forni A. Benzene and leukemia // Environ. Res. 1976. Vol. 11. P. 122–127.

13. Vigliani E.C. Leukemia associated with benzene exposure // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1976. Vol. 271. P. 143–151.

14. Vigliani E.C., Saita G. Benzene and leukemia // N. Engl. J. Med. 1964. Vol. 271. P. 872–876.

15. Wallace L. Environmental exposure to benzene: an update // Environ Health Perspect. 1996. Vol. 104 (6). P. 1129–1136.

search. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2017;813:1-9.

2. Barreto G. The role of catechols and free radicals in benzene toxicity: an oxidative DNA damage pathway. Environ. Mol. Mutagen. 2009;50(9):771-80.

3. Carbonari D. Biomarkers of susceptibility following benzene exposure: influence of genetic polymorphisms on benzene metabolism and health effects. Biomark Med. 2016;10(2):145-63.

4. El-Shakour AA. El-Mekawy Effect of exposure to Benzene on oxidative stress and the functions of liver and kidney in rats. J Environ Occup Sci. 2015;4(1):34-9.

5. Fenga C. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in workers exposed to low-dose benzene. Toxicology Reports. 2017;4:291-5.

6. Hoet P. Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. Biomark Med. 2016;10(2):145-63.

7. Int Arch Occup Environ Health. 2009;82(8):985-95. DOI: 10.1007/s00420-008-0381-6. Epub 2008 Nov 14.

8. Fenga C. Low-dose occupational exposure to benzene and signal transduction pathways involved in the regulation of cellular response to oxidative stress. Life Sciences. 2016;147:67-70.

9. Lovreglio P. Monitoring of the occupational and environmental exposure to low doses of benzene. Giornale Italiano di Medicina del Lavoro Ed Ergonomia. 2013;35(4):251-5.

10. Toxicological Profile for Benzene: NTIS Accession. No. PB98–101157. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta; 1997.

11. Toxicological Profile for Benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta; 2007.

12. Vigliani EC, Forni A. Benzene and leukemia. Environ. Res. 1976;11:122-7.

13. Vigliani EC. Leukemia associated with benzene exposure. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1976;271:143-51.

14. Vigliani EC, Saita G. Benzene and leukemia. N. Engl. J. Med. 1964;271:872-6.

15. Wallace L. Environmental exposure to benzene: an update. Environ Health Perspect. 1996;104(6):1129-36.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 87–95
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 87–95

УДК: 618.14-002.2 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16234

ЛОКАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЭМУЛЬСИИ «ФЛАМЕНА» В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА С АУТОИММУННОЙ ДЕЗАДАПТАЦИЕЙ

Э.А. ОВЧАРУК, С.В. ХАБАРОВ, К.А. ХАДАРЦЕВА

Тульский государственный университет, медицинский институт,
ул. Болдина, д. 128, Тула, 300012, Россия

Аннотация. Для установления значимости хронического эндометрита в возникновении нарушений имплантации проведено иммуногистохимическое исследование эндометрия с выявлением и количественной оценкой маркеров воспалительного процесса *CD56+*, *CD16+*, *CD8+*, *HLA-DR(II)+*, *CD4+*, *CD138+* у 175 женщин репродуктивного возраста. По количеству выявленного дисбаланса иммунокомпетентных клеток обоснована постинфекционная аутоиммунная природа хронического эндометрита, приводящего к аутоиммунной агрессии в эндометрии и отсутствию толерантности к плодному яйцу.

Проведено лечение 123 инфертильных женщин, страдавших хроническим эндометритом с аутоиммунными нарушениями. Всем пациенткам проведена классическая терапия хронического эндометрита. Пациенткам I подгруппы (*n*=68) для улучшения лечения использовано дополнительное внутриматочное введение липосомальной эмульсии «Фламена». Во II подгруппе (*n*=55), локальное воздействие на слизистую оболочку матки не производилось. После лечения хронического эндометрита в течение года зарегистрировано наступление клинически подтвержденной беременности у большинства пациенток с применением липосомальной эмульсии (79,41%). Частота наступления беременности у пациенток II подгруппы оказалась значительно ниже (41,82%). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности оптимизации терапии хронического эндометрита и условий имплантации эмбрионов путем дополнительного локального воздействия на ткань эндометрия липосомальной эмульсии «Фламена» у пациенток указанного контингента, способствующего прогрессивному восстановлению функции ткани, снижению аутоиммунной агрессии в ткани и удачной имплантации, пролонгированию беременности.

Ключевые слова: аутоиммунная агрессия, аутоиммунный эндометрит, эндометрий, женское бесплодие, иммуногистохимическое исследование, локальная терапия, липосомальная эмульсия «Фламена».

Введение. Одной из глобальных проблем современной репродуктологии, является нарушение процессов имплантации, обусловленное дефектом морфологического субстрата и/или дисфункцией эндометриального интерфейса, представляющей собой комплекс морфофункциональных изменений эндометрия воспалительного генеза, сопровождающийся нарушением нормальной циклической трансформации и рецептивности ткани [2,6,11]. Хроническое воспаление в эндометрии развивается по двум патогенетическим направлениям с формированием двух клинико-морфологических форм – полиповидный и лимфофоликулярный эндометрит. При преобладании пролиферативного компонента воспаления происходит развитие микрополиповидных структур слизистой, образование лимфоидных фолликулов и расценивается как аутоиммунное воспаление [9,18]. Воспалительные причины – острая или хроническая инфекция – приводят к поражению базального слоя эндометрия. Регенерация эндометрия происходит при патологическом фиброзе, который в свою очередь, разрушает базальный слой эндометриального паттерна, уничтожая тем самим процесс восстановления его рецептивности [10,11,14].

Распространенность *хронического эндометрита* (ХЭ) у пациенток с бесплодием и невынашиванием точно не известна и колеблется, по мнению разных авторов, от 1 до 70%, достигая своего максимума при наличии трубно-перитонеального фактора бесплодия [2,17,19]. Такой разброс данных обусловлен высоким процентом бессимптомно и атипично протекающих форм заболевания, низкой специфичностью и малой чувствительностью диагностических методов. «Золотым стандартом» и окончательным этапом диагностики ХЭ следует считать морфологическое исследование эн-

дометрия с *иммуногистохимическим исследованием* (ИГХИ) биоптата. На сегодняшний день диагноз ХЭ верифицируется на основании обнаружения в эндометрии в пролиферативную фазу менструального цикла морфологических и иммуногистохимических признаков воспаления [2,6-8]. Общепринятыми критериями морфологической диагностики ХЭ являются: наличие лимфоидных инфильтратов, расположенных чаще вокруг желез и кровеносных сосудов, присутствие в строме плазматических клеток, наличие очагового фиброзирования стромы эндометрия в сочетании со склеротическими патологическими изменениями стенок спиральных артерий, усиление неоангиогенеза с формированием сосудов капиллярного и синусоидного типа [15].

В большинстве работ [4,6,7,11,17] показано, что при ХЭ в эндометрии присутствуют плазматические клетки. Интенсивность проявления клинических симптомов заболевания связана с повышенной концентрацией плазматических клеток в эндометрии [11]. Иммуногистохимическая детекция плазматических клеток с помощью маркеров позволяет выявить их в 100% случаев, а в тех же образцах эндометрия при световой микроскопии – только в 68% [4]. Следовательно, иммуногистохимический метод идентификации плазматических клеток существенно помогает в диагностике ХЭ.

Длительное течение ХЭ без адекватной терапии влечет за собой разрушение экстрацеллюлярного матрикса, изменение ангиоархитектоники ткани и последующую ишемию. Все это не может не влиять на основную функцию эндометрия, поскольку имплантация плодного яйца и дальнейшее развитие беременности возможны только при условии успешного взаимодействия слизистой оболочки матки и эмбриона в течение достаточно короткого времени («имплантационного окна»). При ХЭ к срыву имплантации может приводить как формирование неполноценного «имплантационного окна», так и его десинхронизация – сдвиг процесса созревания эндометрия по времени [2-4].

В последние десятилетия с широким применением программ *вспомогательных репродуктивных технологий* (ВРТ), значительно повысился интерес к лечению ХЭ, который, в свою очередь, воспринимается как причина «репродуктивных неудач» (от 13 до 83,3%), неудачных имплантаций в программах ЭКО и неразвивающейся беременности [1,12,17,19]. Наиболее высокие показатели распространенности ХЭ отмечены у больных с привычным невынашиванием беременности – 33,5-86,7% [4,16].

Выяснение особенностей состояния эндометрия у пациенток с бесплодием и при необходимости их нивелирование с целью оптимизации условий имплантации эмбрионов может в существенной степени способствовать не только более четкому установлению связи этих особенностей со степенью вероятности достижения беременности с помощью ВРТ, но и совершенствованию подходов к повышению эффективности лечения инфертильности [5,13]. Процент эффективности программ ВРТ и вынашивание беременности определяет актуальность изучение морфофункциональной диагностики дефектов эндометрия с нарушением его рецептивности, в основе которого лежит прогрессирующее локальное воспаление с нарастанием лимфоплазмоцитарной инфильтрации эндометрия [1].

Цель исследования – оценить эффективность лечения аутоиммунного ХЭ в комплексной терапии с применением внутриматочного введения препарата *липосомальной эмульсии* (ЛЭ) «Фламена» с действующим веществом дигидрокверцетин.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе Тульского государственного учреждения здравоохранения Минздрава России «Тульский областной перинатальный центр». Отбор пациенток осуществлялся в отделении репродуктивного здоровья женщин. Лабораторные исследования проводились в клинической лаборатории и в отделении патологической анатомии на базе Тульского государственного учреждения здравоохранения Минздрава России «Тульская областная клиническая больница».

У всех пациенток было взято добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Процедура исследования соответствовала Национальному стандарту РФ ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» (утв. Приказом Федерального агентства по Техническому регулированию и метрологии от 27.09.2005 г. № 232-ст), стандартам Хельсинкской декларации *WMA* (1964 г., с пересмотром от 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004 и 2008 гг). Исследование одобрено экспертной комиссией ФГБОУ ВПО «Тульский государственный

университет» по вопросам медицинской этики.

Обследовано 175 женщин детородного периода. Средний возраст пациенток составил 32,4 года.

В ходе обследования сформировано две группы: основная группа – 135 инфертильных женщин и контрольная группа – 40 здоровых пациенток репродуктивного возраста.

Все женщины основной группы ранее безуспешно лечились по поводу бесплодия. Первичное бесплодие наблюдалось у 52 (38,5%) пациенток, вторичное – у 83 (61,5%). Средняя продолжительность бесплодия составила 7,2±2,4 года при колебаниях от 2 до 13 лет. Неудачные попытки ЭКО и ПЭ были отмечены у 16,3% женщин.

Оценка состояния пациенток и верификация диагноза были обусловлены анализом анамнестических данных и результатами общеклинического обследования, бимануального, эхографического, микробиологического и бактериологического исследований, морфологического и ИГХИ ткани эндометрия.

Состояние эндометрия у женщин оценивали, помимо УЗИ, с помощью гистологического исследования соскоба слизистой оболочки матки. Всем пациенткам в амбулаторных условиях проведен аспирационный кюретаж полости матки на 7-10 день менструального цикла, т. е. в среднюю и позднюю пролиферативную фазу по классификации *R.W. Noyes* (1950), с использованием вакуумного шприца-аспиратора *Ipas MVA Plus*® (США) и одноразовых канюль-кюреток *Ipas Easy Grip*® (США) диаметром 0,3-0,4 см. Полученный таким образом материал (функциональный и базальный слои ткани эндометрия) в объеме 1,0-1,5 мл фиксировался в 10%-м нейтральном забуференном формалине, обрабатывался в аппарате гистологической проводки тканей фирмы *«Pool Of Scientific Instruments»* (Швейцария) и заливался в парафин. Гистологические срезы изучали с помощью простой световой микроскопии после окраски гематоксилин-эозином. В обзорных препаратах проводилась оценка межуточной ткани, сосудистого русла, стенок спиральных артерий.

Использование иммуногистохимического метода количественной оценки маркеров иммунных клеток (Е.А. Михнина; патент RN2003104391/15) позволило оценить наличие *больших гранулярных лимфоцитов* (БГЛ) с определением экспрессии маркеров *CD56+*, *CD16+*, *CD8+* (цитотоксические *Т*-лимфоциты), комплекса гистосовместимости человека *HLA-DR(II)+*, *CD4+* (*Т*-хелперы), маркеров плазматических клеток – *CD138+* и диагностировать присутствие воспалительного процесса.

Основную группу после ИГХИ эндометрия в зависимости от наличия или отсутствия воспаления с аутоиммунными нарушениями разделили на две подгруппы: 123 (91%) больных ХЭ с аутоиммунными нарушениями в полости матки и 12 (8,9%) женщин с ХЭ без изменений локального иммунитета.

Статистически полученные данные обрабатывались с помощью программы «*STATISTICA 10.0*» фирмы *StatSoft Inc.*

Результаты и их обсуждение. В ходе обследования, независимо от наличия или отсутствия инфекционного агента, ИГХ методом выявлены изменения локального иммунитета в виде увеличения количества иммунокомпетентных клеток *CD16+*, *CD56+*, *CD138+*, *HLA-DR(II)+*, изменения *иммунорегуляторного индекса* (ИРИ) в сторону увеличения, за счет преобладания цитотоксических *Т*-лимфоцитов (табл. 1).

В результате индивидуального анализа экспрессии количества поверхностных маркеров клеток иммунной системы *CD16+*, *CD56+* и *HLA-DR(II)+* эндометрия у всех пациенток контрольной группы изменений не наблюдалось, а также отсутствовали плазматические клетки.

У больных основной группы выявлены различные варианты иммунной дезадаптации в структурах эндометрия, проявляющиеся в виде увеличения числа поверхностных маркеров натуральных киллеров (*NK*-клеток), экспрессирующих *CD16+* (у 81,48%; ОР 32,89; 95% ДИ 4,74-228,17), *CD56+* (у 91,11%; ОР 10,93; 95% ДИ 1,67-71,46) и *HLA-DR(II)+* (у 63,7%; ОР 25,78; 95% ДИ 3,71–179,27), наличие плазматических клеток (у 100%; ОР 11,91; 95% ДИ 1,82-77,8) в полях зрения (p<0,05 для всех показателей).

У 18,52% (ОР 7,7; 95% ДИ 1,08-55,02; p<0,05) пациенток I подгруппы основной группы (табл. 2) в эндометрии выявлено увеличение количества поверхностных маркеров *NK*-клеток, экспрессирующих *CD56+* и у 25,92% одновременное увеличение количества поверхностных маркеров *NK*-клеток, с повышенной экспрессией маркеров *CD56+*, *CD16+* (ОР 10,67; 95% ДИ 1,51-75,38; p<0,05), свидетельствовало о ХЭ с аутоиммунными нарушениями или воспаление с наличием аутоиммунного компонента. У 46,67% больных (ОР 18,96; 95% ДИ 2,72-132,42;

p<0,05) отмечалось одновременное увеличение поверхностных маркеров *NK*-клеток *CD56+*, *CD16+* и *HLA-DR(II)+*, что свидетельствовало об обострении аутоиммунного ХЭ.

Таблица 1

Показатели иммуногистохимического исследования эндометрия женщин обследованных групп

Показатели ИГХИ эндометрия, (количество клеток в 3-х полях зрения)	Основная группа *n*=135			Контрольная группа *n*=40
	I подгруппа *n*=123	II подгруппа *n*=12	Итого *n*=135	
CD16+ 0–10 клеток в поле зрения, абс. (%)	25 (20,32%)* *x*	0 (0%)*	25 (18,52%)*	40 (100%)
CD16+ более 10 клеток в поле зрения, абс. (%)	98 (79,67%)* *x*	12 (100%)*	110 (81,48%)*	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	32,89 (4,74–228,17)			
CD56+ 0–10 клеток в поле зрения, абс. (%).	0 (0%)** *xx*	12 (100%)	12 (8,89%)*	40 (100%)
CD56+ более 10 клеток в поле зрения, абс. (%)	123 (100%)** *xx*	0 (0%)	123 (91,11%)*	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	10,93 (1,67–71,46)			
CD138+ 0 клеток в поле зрения, абс. (%)	0 (0,00%)**	0 (0,00%)*	0 (0,00%)**	40 (100%)
CD138+ 1 и более клеток в поле зрения, абс. (%)	123 (100%)**	12 (100%)*	135 (100%)**	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	11,91 (1,82–77,8)			
HLA-DR(II)+ 0–10 клеток в поле зрения, абс. (%)	47 (38,21%)*	2 (16,67%)*	49 (36,3%)*	40 (100%)
HLA-DR(II)+ более 10 клеток в поле зрения, абс. (%)	76 (61,78%)**	10 (83,33%)*	86 (63,7%)**	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	25,78 (3,71–179,27)			

Примечание: Статистическая значимость различий с контрольной группой: * – *p*<0,05; ** – *p*<0,01; *** – *p*<0,001

Таблица 2

Характер аутоиммунных нарушений при хроническом эндометрите

Показатели ИГХИ эндометрия, (количество клеток в 3-х полях зрения)	Основная группа *n*=135			Контрольная группа *n*=40
	I подгруппа *n*=123	II подгруппа *n*=12	Итого *n*=135	
Аутоиммунные нарушения при ХЭ, абс. (%)				
CD56+ более 10	25 (20,33%)* *xxx*	0 (0,00%)	25 (18,52%)*	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	7,7 (1,08-55,02)			
Аутоиммунные нарушения при ХЭ (период обострения), абс. (%)				
CD56+ более 10 *CD16+* более 10 *HLA-DR(II)+* более 10	63 (51,22%)* *xxx*	0 (0,00%)	63 (46,67%)*	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	18,96 (2,72–132,42)			
ХЭ с наличием аутоиммунного компонента, абс. (%)				
CD56+ более 10 *CD16+* более 10	35 (28,46%)** *xxx*	0 (0,00%)	35 (25,92%)**	0 (0,00%)
Относительный риск (95% ДИ)	10,67 (1,51–75,38)			
ХЭ без аутоиммунных нарушений, абс. (%)				
CD16+ более 10	0 (0,00%)	2 (16,67%)	2 (1,48%)	0 (0,00%)
CD16+ более 10 *HLA-DR(II)+* более 10	0 (0,00%)	10 (83,33%)*	10 (7,41%)*	0 (0,00%)

Примечание. Статистическая значимость различий с контрольной группой: * – *p*<0,05; ** – *p*<0,01; *** – *p*<0,001; *x* – значимость различий показателей I и II подгруппы основной группы *p*<0,05; *xx* – *p*<0,01; *xxx* – *p*<0,001

У 12 (8,89%) больных II подгруппы основной группы выявлено увеличенное количество поверхностных маркеров *NK*-клеток, экспрессирующих *CD16+*, свидетельствующее о ХЭ, а у 7,41% больных – одновременно высокое содержание киллерных клеток, экспрессирующих *CD16+*, и комплекса гистосовместимости человека *HLA-DR(II)+*, что отражало обострение ХЭ.

У 12 (100%) женщин II подгруппы основной группы с ХЭ присутствовали клетки плазматического ряда *CD138+*, но не отмечалось повышения количества *NK*-клеток *CD56+*, что подтверждало воспалительный процесс в эндометрии без запуска аутоиммунных процессов.

На рис. 1-4 представлены электронные фотографии маркеров клеток иммунной системы

эндометрия, иммуногистохимическое окрашивание иммунопероксидазным методом, × 450 (фото из личного архива Э.В. Овчарук).

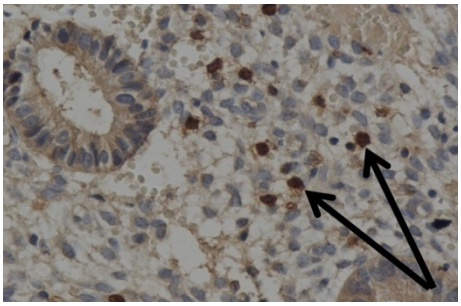


Рис. 1. Большие гранулярные лимфоциты, несущие маркеры *CD*16+

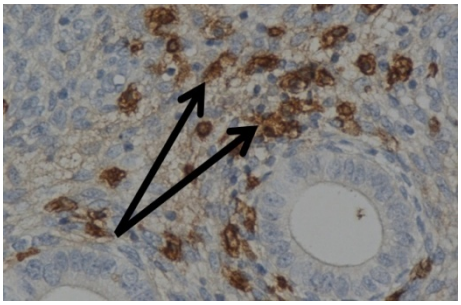


Рис. 2. Большие гранулярные лимфоциты, несущие маркеры *CD*56+

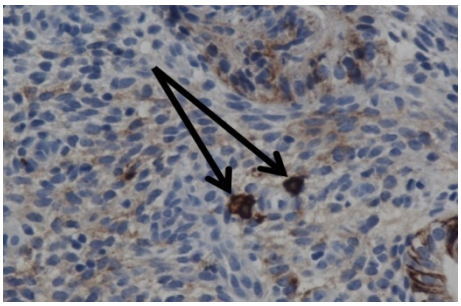


Рис. 3. Плазматические клетки воспалительного инфильтрата, маркер *CD*138+

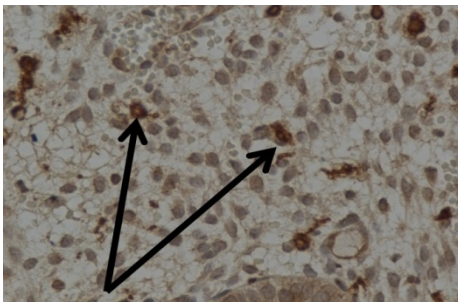


Рис. 4. Маркер комплекса гистосовместимости человека *HLA-DR*(II)+

Всем пациенткам основной группы проведена классическая терапия ХЭ в три этапа: общесистемное лечение, циклическая гормонотерапия и местное лечение с применением физиотерапии. Пациенткам с аутоиммунными нарушениями при ХЭ для улучшения терапии использовано локальное воздействие на эндометрий. На втором этапе лечения в комплексную терапию включено внутриматочное введение ЛЭ (Патент РФ № 2369383). В состав липосомальной эмульсии входят: лецитин – 30 мг/мл, глицин – 35±5 мг/мл, дигидрокверцетин 3,8±0,2 мг/мл, вода очищенная (вспомогательное вещество) до 1 000 мл. Основным действующим веществом в ЛЭ является дигидрокверцетин, обладающий антимикробным, противовоспалительным, противоотечным действием, стимулирующий регенерацию тканей и слизистых, нормализирующий клеточный метаболизм и локальный иммунный гомеостаз (Патент РФ № 2369383, производство ООО «Научная компания «Фламена», Россия). Ранее лечение больных ХЭ с аутоиммунными нарушениями при бесплодии препаратом ЛЭ «Фламена» не проводилось.

Пациентки I подгруппы с иммуногистохимически подтвержденным нарушением локального иммунитета, вследствие постинфекционного аутоиммунного воспаления эндометрия в зависимости от использования ЛЭ были разделены на 2 подгруппы (табл. 3):

IA подгруппа (n=68), в которой на 6-7 день менструального цикла после предварительной обработки влагалища и цервикального канала асептическим раствором через полимерный проводник диаметром 1 мм в полость матки ежедневно вводили по 2,0 мл теплого (36,6-37 °*C*) стерильного раствора ЛЭ курсом 10 дней;

IБ подгруппа (n=55) – без внутриматочного введения лекарственных средств.

В результате проведенного лечения ХЭ с аутоиммунными нарушениями выздоровление наступило у большинства больных IA подгруппы (с внутриматочным введением ЛЭ) (IA – 93,1%; IБ – 67,3%; p<0,05) в виде восстановления толщины эндометрия, сбалансированности иммунокомпетентных клеток. В итоге проведенной комплексной терапии неполное выздоровление наблюдалось у большинства пациенток IБ подгруппы (без применения ЛЭ) (IA – 6,9% против IБ – 32,7%; p<0,05) в виде дисбаланса количества иммунокомпетентных клеток с увеличением активированных *CD8*+, *CD16*+ и наличием единичных плазматических клеток (*CD138*+).

Таблица 3

Показатели ИГХИ эндометрия больных ХЭ с аутоиммунными нарушениями в IА и IБ подгруппе до и после лечения

Поверхностные маркеры клеток иммунной системы эндометрия	Основная группа *n*=123				Контрольная группа *n*=40
	IА подгруппа *n*=68		IБ подгруппа *n*=55		
	Исходное состояние	После лечения	Исходное состояние	После лечения	
CD4+	24,50 (18,00–36,00)	15,00 (12,75–23,75)	28,00 (17,00–41,00)	17,00 (11,00–29,50)	19,00 (13,00–28,00)
CD8+	32,00 (15,00–46,00)	15,00 (10,75–36,25)	29,50 (20,00–41,50)	39,00 (13,75–42,00)	28,00 (15,00–49,00)
ИРИ	0,86 (0,53–1,83)	0,87 (0,66–1,39)	0,83 (0,50–1,63)	0,81 (0,45–1,68)	0,75 (0,63–1,00)
CD16+	10,00 (7,00–14,40)	7,00 (5,00–8,75)	8,67 (5,00–12,69)	9,00 (5,33–11,00)	5,00 (4,50–7,00)
CD56+	20,67 (13,75–26,74)	9,00 (7,00–9,67)	18,50 (14,08–29,59)	9,67 (8,00–14,00)	6,00 (4,90–7,80)
CD138+	5,00 (3,00–6,00)	0,00 (0,00–1,00)	4,00 (2,00–7,00)	0,00 (0,00–2,00)	0,00 (0,00–0,00)
HLA-DR(II)+	13,50 (9,33–16,00)	8,33 (5,92–9,67)	13,33 (10,33–15,33)	9,00 (6,67–10,33)	5,00 (4,37–6,20)

Таблица 4

Эффективность лечения больных ХЭ с аутоиммунными нарушениями

Больные ХЭ с аутоиммунными нарушениями *n*=123		Эффективность лечения			
		Выздоровление		Наступление беременности	
		Полное	Не полное	Всего	Отсутствует
с применением *ЛЭ, n*=68	абс. ч.	63	5	54	14
	%	93,1*	6,9	79,41*	8,34*
без применения *ЛЭ, n*=55	абс. ч.	37	18	23	32
	%	67,3	32,7	41,82	58,18

Одним из критериев эффективности проведенной терапии является восстановление репродуктивной функции. После лечения ХЭ в течение года на основании данных гормонального исследования и УЗИ зарегистрировано наступление клинически подтвержденной беременности у большинства пациенток с применением ЛЭ. Частота наступления беременности у пациенток IБ подгруппы оказалась значительно ниже, чем в IА (IБ – 41,82% против IА – 79,41%; $p<0,001$).

Хроническое воспаление в эндометрии развивается в связи с различными ятрогенными, инфекционными воздействиями на ткань эндометрия. Рецидивирующее длительное течение процесса в ткани эндометрия неизбежно приводит к развитию аутоиммунных нарушений и формированию *постинфекционного аутоиммунного воспаления* (ПИАВ) независимо от отсутствия инфекционного агента. Дисбаланс *Т*-клеточного иммунитета способствует нарушению иммунологической толерантности материнского организма к трофобласту эмбриона, что препятствует имплантации плодного яйца, или патологический имплантации с развитием плацентарной недостаточности и прерыванием беременности.

Исходя из данных результатов обследования эндометрия у инфертильных женщин, нами выявлено преобладание аутоиммунного дисбаланса при хроническом воспалении в эндометрии, характерного для ПИАВ.

Терапия ХЭ – один из важнейших этапов в преодолении бесплодия. При его лечении используется комплексный патогенетический подход, направленный на полноценную реабилитацию регенераторно-пластической функции эндометрия.

Применение в комплексной терапии местного воздействия на регенерирующую ткань эндометрия в раннюю и среднюю стадию фазы пролиферации внутриматочного введения ЛЭ «Фламена» обосновано. Препарат обладает противовоспалительным, противоотечным, регенерирующим действием, активно стимулирует развитие репарационных процессов, в том числе ангиогенез, способствует восстановлению ангиотрофики и нейротрофики поврежденных тканей, исчезновению в них ишемии. Восстановленная структура и функция эндометрия способствует успешной имплантацией плодного яйца и пролонгированию беременности.

Заключение. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют, что применение в комплексной терапии ХЭ с аутоиммунным дисбалансом местного воздействия на ростковый слой ткани эндометрия препарата ЛЭ «Фламена», способствует повышению эффективности лечения и восстановления функции эндометрия. Возможность применения данного вида терапии и отсутствие побочных эффектов позволяет рассматривать ее как дополнительное безопасное местное лечение аутоиммунных ХЭ. Вместе с тем достижение положительного качественного результата лечения

способствует проведению преконцепционной подготовки женщин с бесплодием к программе ЭКО.

APPLICATION OF LIPOSOMAL EMULSION «FLAMENA» IN THE TREATMENT OF CHRONIC ENDOMETRITIS WITH AUTOIMMUNE DESADAPTATION

E.A. OVCHARUK, S.V. KHABAROV, K.A. KHADARTSEVA

Tula State University, Medical Institute, Boldin Str., 128, Tula, 300012, Russia

Abstract. To establish the importance of chronic endometritis in the occurrence of violations of the implantation carried out immunohistochemical study of the endometrium with the identification and quantitative assessment of markers of the inflammatory process, *CD56+*, *CD16+*, *CD8+*, *HLA-DR(II)+*, *CD4+*, *CD138+* 175 women of reproductive age. The postinfectious autoimmune nature of chronic endometritis, leading to autoimmune aggression in the endometrium and the lack of tolerance to the fetal egg, is justified by the number of revealed imbalance of immunocompetent cells.

123 infertile women suffering from chronic endometritis with autoimmune disorders were treated. All patients underwent classical therapy for chronic endometritis. Patients of subgroup I (n=68) were treated with additional intrauterine administration of liposomal emulsion "Flamena". In the II subgroup (n=55), local effects on the mucous membrane of the uterus was carried out. After treatment of chronic endometritis within a year, clinically confirmed pregnancy was registered in most patients with the use of liposomal emulsion (79.41%). The pregnancy rate in subgroup II patients was significantly lower (41.82%). The obtained data indicate the expediency of optimizing the therapy of chronic endometritis and embryo implantation conditions by additional local impact on the endometrial tissue of the liposomal emulsion "Flamena" in patients of this contingent, contributing to the progressive restoration of tissue function, reduce autoimmune aggression in the tissue and successful implantation, prolongation of pregnancy.

Key words: autoimmune aggression, autoimmune endometritis, endometrium, female infertility, immunohistochemical study, local therapy, liposomal emulsion of Flamena.

Литература

1. Базина М.И. Прегравидарная подготовка женщин при репродуктивных неудачах: дис. ...док. мед. наук. М., 2016. 292 с.

2. Беременность ранних сроков. От прегравидарной подготовки к здоровой гестации / Под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. 3-е изд., перераб и доп. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2018. 800 с.

3. Бесплодный брак: версии и контраверсии / Под ред. В.Е. Радзинского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 401 с.

4. Гомболевская Н.А., Марченко Л.А. Современные критерии диагностики хронического эндометрита (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2012 . Т. 18, № 1. С. 42–46.

5. Здановский В.М., Буравченко Н.Б. Результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий у бесплодных пациенток с патологией

References

1. Bazina MI. Pregravidarnaya podgotovka zhenshhin pri reproduktivnykh neudachakh [Pregravid preparation of women in reproductive failures] [dissertation]. Moscow (Moscow region); 2016. Russian.

2. Beremennost' rannikh srokov. Ot pregravidarnoj podgotovki k zdorovoj gestatsii [Pregnancy of early terms. From pregravid preparation to healthy gestation]. Pod red. VE Radzinskogo, AA Orazmuradova. – 3 e izd, pererab i dop. Moscow: Redaktsiya zhurnala StatusPraesens; 2018. Russian.

3. Besplodnyj brak: versii i kontraversii [Infertile marriage: versions and contra-version]. Pod red. VE Radzinskogo. Moscow: GEHOTAR-Media; 2018. Russian.

4. Gombolevskaya NA, Marchenko LA. Sovremennye kriterii diagnostiki khronicheskogo ehndometrita (obzor literatury) [Modern criteria for the diagnosis of chronic endometritis (literature review)]. Problemy reproduktsii. 2012;18:1:42-6. Russian.

5. Zdanovskij VM, Buravchenko NB. Rezul'taty primeneniya vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologij u besplodnykh patsientok s patologiej ehn-

эндометрия. // Российский вестник акушера-гинеколога. 2010. № 2. С. 39–42.

dometriya. [The results of the application of assisted reproductive technologies in infertile patients with endometrial pathology]. Rossijskij vestnik akushera-ginekologa. 2010;2:39-42. Russian.

6. Михнина Е.А. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности: Автореф. дис. … докт. мед. наук. СПб., 2009. 40 с.

6. Mikhnina EA. Morfofunktsional'noe sostoyanie ehndometriya u zhenshhin s besplodiem i nevynashivaniem beremennost [Morpho-functional state of the endometrium in women with infertility and recurrent pregnancy loss] [dissertation]. SPb; 2009. Russian.

7. Михнина Е.А., Эллиниди В.Н., Калинина Н.М., Давыдова Н.И. Способ диагностики хронического эндометрита и характера воспаления (патент РФ № 2236013), 2007.

7. Mikhnina EA, Ehllinidi VN, Kalinina NM, Davydova NI. Sposob diagnostiki khronicheskogo ehndometrita i kharaktera vospaleniya [Method of diagnosis of chronic endometritis and the nature of inflammation] Russian Federation patent RU № 2236013; 2007. Russian.

8. Овчарук Э.А., Хадарцева К.А. Бактериологическая и гистологическая диагностика хронического эндометрита при бесплодии // Вестник новых медицинских технологий. 2010. №1. С. 181–182.

8. Ovcharuk EHA, Hadarceva KA. Bakteriologicheskaya i gistologicheskaya diagnostika hronicheskogo ehndometrita pri besplodii [Bacteriological and histological diagnosis of chronic endometritis in infertility]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2010;20(1):181-2. Russian.

9. Овчарук Э.А., Хадарцева К.А., Овчарук В.Л. Хронические аутоиммунные эндометриты диагностика и лечение (краткое сообщение) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 2-198. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4589.pdf (дата обращения 02.12.2013).

9. Ovcharuk EHA, Hadarceva KA, Ovcharuk VL. Hronicheskie autoimmunnye ehndometrity diagnostika i lechenie (kratkoe soobshchenie) [Chronic autoimmune endometritis diagnosis and treatment (short report)]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. EHlektronnoe izdanie. 2013 [cited 2013 Dec 02];1 [about 7 p.]. Russian. Available from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4589.pdf.

10. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б., Кайгородова Л.А., Токтар Л.Р., Покуль Л.В., Тулупова М.С. «Тонкий» эндометрий – современный взгляд на проблему // Фарматека. 2018. № 6 (359). С. 15–22.

10. Orazov MR, Radzinskij VE, Khamoshina MB, Kajgorodova LA, Toktar LR, Pokul' LV, Tulupova MS. «Tonkij» ehndometrij – sovremennyj vzglyad na problemu [«Thin» endometrium-a modern view of the problem]. Farmateka. 2018;6(359):15-22. Russian.

11. Петров Ю.А. Хронический эндометрит в репродуктивном возрасте: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика: Автореф. дис. … докт. мед. наук. М., 2012. 47 с.

11. Petrov YuA. Khronicheskij ehndometrit v reproduktivnom vozraste: ehtiologiya, patogenez, diagnostika, lechenie i profilaktika [Chronic endometritis in reproductive age: etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention] [dissertation]. Moscow (Moscow region); 2012. Russian.

12. Подзолкова Н.М., Скворцова М.Ю., Денисова Т.В. Самопроизвольное прерывание беременности: современные подходы к диагностике, лечению и профилактике. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 224 с.

12. Podzolkova NM, Skvortsova MYu, Denisova TV. Samoproizvol'noe preryvanie beremennosti: sovremennye podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike [Spontaneous abortion: modern approaches to diagnosis, treatment and prevention]. Moscow: GEHOTAR-Media; 2018. Russian.

13. Подзолкова Н.М., Шамугия Н.Л., Колода Ю.А., Скворцова М.Ю. Бесплодие. Диагностика, современные методы лечения. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 144 с.

13. Podzolkova NM, Shamugiya NL, Koloda YuA, Skvortsova MYu. Besplodie. Diagnostika, sovremennye metody lecheniya [Infertility. Diagnostics, modern methods of treatment]. Moscow: GEHOTAR-

Media; 2018. Russian.

14. Таболова В.К., Корнеева И.Е. Влияние хронического эндометрита на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий: морфофункциональные и молекулярно-генетические особенности // Акушерство и гинекология. 2013. № 10. С. 17–22.

14. Tabolova VK, Korneeva IE. Vliyanie khronicheskogo ehndometrita na iskhody programm vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologij: morfofunktsional'nye i molekulyarno-geneticheskie osobennosti [The influence of chronic endometritis on the outcomes of assisted reproductive technology programs: morphofunctional and molecular genetic features]. Akusherstvo i ginekologiya. 2013;10:17-22. Russian.

15. Хадарцева К.А., Слукина Т.В., Чернуха Г.Е. Системные эффекты гормонального воздействия на процессы пролиферации и апоптоза при гиперпластических процессах эндометрия // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15, № 2. С. 222–223.

15. Hadarceva KA, Slukina TV, CHernuha GE. Sistemnye ehffekty gormonal'nogo vozdejstviya na processy proliferacii i apoptoza pri giperplasticheskih processah ehndometriya [Systemic effects of hormonal influence on the processes of proliferation and apoptosis in endometrial hyperplastic processes]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2008;15(2):222-3. Russian.

16. Хадарцева К.А., Овчарук Э.А. Оценка секреторной функции эндометрия при бесплодии // Вестник новых медицинских технологий. 2011. №1. С. 75–76.

16. Hadarceva KA, Ovcharuk EHA. Ocenka sekretornoj funkcii ehndometriya pri besplodii [Evaluation of the secretory function of the endometrium in infertility]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2011;1:75-6. Russian.

17. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной функции: Дис. … докт. мед. наук. М., 2007. 287 с.

17. Shurshalina AV. Khronicheskij ehndometrit u zhenshhin s patologiej reproduktivnoj funktsii [Chronic endometritis in women with pathology of reproductive function] [dissertation]. Moscow (Moscow region); 2007. Russian.

18. Эллиниди В.Н., Феоктистов А.А., Обидняк Д.М., Лямина А.В., Суворова И.Ю. Хронический полипоидный и лимфофолликулярный эндометрит: гистероскопическая и гистологическая диагностика. // Журнал акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66. № 6. С. 59–65.

18. Ehllinidi VN, Feoktistov AA, Obidnyak DM, Lyamina AV, Suvorova IYu. Khronicheskij polipoidnyj i limfofollikulyarnyj ehndometrit: gisteroskopicheskaya i gistologicheskaya diagnostika [Chronic polypoid and limfofollikulyarnoy endometritis: hysteroscopic and histological diagnosis]. Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej. 2017;66:6:59-65. Russian.

19. Johnston-MacAnanny E.B., Hartnett J., Engmann L.L., Nulsen J.C. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. // Fertil Steril 2010. Vol. 93, № 2. P. 437–441.

19. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC et al. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. Fertil Steril 2010;93:2:437-41.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 96–100
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 96–100

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «ОБЩЕГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ», посвященная 100-летию ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

УДК: 616.018 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16117

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МЫШЕЧНЫЕ СТРУКТУРЫ АРТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ИНФАРКТОВ ПЛАЦЕНТЫ

А.Н. ГАНСБУРГСКИЙ, А.В. ЯЛЬЦЕВ, К.О. АЗАРОВА

ФГБОУ ВО Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России, ул. Революционная, 5, г. Ярославль, 150000, Россия

Аннотация. Гистологическими, гистохимическими и морфометрическими методами изучены 36 плацент массой 180-210 г при беременности 28-29 недель. Обнаружены ишемические инфаркты, формирование которых характерно для доношенной и переношенной беременности и некоторых заболеваний матери. Установлено формирование дополнительных гладкомышечных образований в артериях гипоплазированной плаценты. Интимальная мускулатура определяется в артериях диаметром 40-100 мкм; локализуется в области поворотов и разветвлений сосудов, представлена пучками косопродольно ориентированных гладких миоцитов. Полиповидные подушки встречаются в артериях калибром более 100 мкм. Дополнительные гладкомышечные образования, способствуют рациональному распределению крови на территории недоразвитой плаценты и обеспечивают снижение трофического и кислородного голодания плода. На активное влияние дополнительных гладкомышечных образований на гемодинамику указывает увеличенное содержание гликогена по сравнению с миоцитами средней оболочки. Возникнув как адаптационные структуры дополнительные гладкомышечные элементы могут гипертрофироваться и полностью перекрывать просвет артерий и препятствовать кровотоку. Это способствует возникновению острой ишемии и преждевременному образованию ишемических инфарктов в недоношенной плаценте. Представленный морфогенез рассматривается как одна из вероятных причин формирования инфарктов провизорного органа в сроки гестации 28-29 недель.

Ключевые слова: плацента, гипоплазия, дополнительные гладкомышечные образования артерий, ишемические инфаркты.

Актуальность. *Плацента* (П) снабжает плод кислородом, питательными веществами, водой, электролитами и иммуноглобулинами, осуществляет выделительную, эндокринную функции, обеспечивая оптимальные условия фетогенеза [3,5,6,11]. Гипоплазия П нередко приводит к *фетоплацентарной недостаточности* (ФПН) [10] и неблагоприятно сказывается на развитии плода и функционировании его сердечно-сосудистой системы. В стенках артерий недоразвитой П формируются *дополнительные гладкомышечные структуры* (ДМС), появление которых расценивается как адаптационный гистогенез [8]. Добавочные комплексы *гладких миоцитов* (ГМ) артерий первоначально способны поддерживать оптимальную плацентарную гемодинамику. В морфологических лабораториях Ярославского медицинского университета изучены различные варианты приспособительных образований артериального бассейна плода при ФПН [1,8]. Вместе с тем, в доступной литературе сведения о морфогенетической связи подобных мышечных структур в сосудах с развитием ишемических инфарктов П, а также их влиянии на возникновение хронической ФПН немногочисленны и противоречивы.

Цель исследования – изучение структурной организации дополнительных мышечных образований артерий недоразвитой П и их роли в преждевременном развитии ишемических инфарктов П и их влиянии на преждевременное развитие ишемических инфарктов.

Материалы и методы исследования. Изучено 36 случаев антенатальной гибели плода при сроке беременности 28-29 недель, вследствие развития хронической ФПН. Причиной патологии явилась гипоплазия П с формированием ишемических инфарктов. Масса плодов – 850-900 г, а соответствующих им П – 180-210 г. В группу сравнения вошли 10 наблю-

дений внутриутробной смерти плода при том же сроке гестации, но соответствии массы П (290-320 г) и плода (1200-1300 г) продолжительности беременности.

Из П иссекали ткань в нескольких областях плодной и материнской части, а также на разных уровнях пупочного канатика. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине и жидкости Карнуа. Серийные срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином с эозином, по Массону и Харту, содержание гликогена выявляли ШИК-реакцией (контроль с амилазой). Винтовым окуляр-микрометром МОВ -1-15х определяли калибр артерий с ДМС. Количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики. О значимости различий судили по величине *t* критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. В артериях П и пупочного канатика встречаются ДМС в виде пучков интимальной мускулатуры (рис. 1) и *полиповидных подушек* (ПП) (рис. 2).

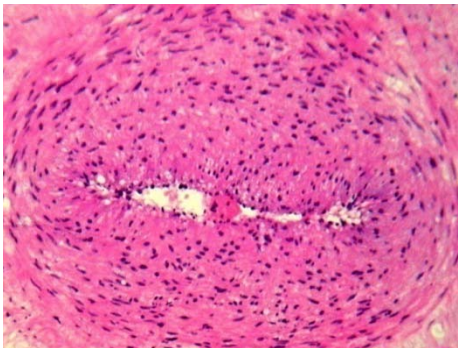


Рис. 1. Косопродольные пучки гладких миоцитов (отмечено звездочкой) во внутренней оболочке артерии хориона. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200

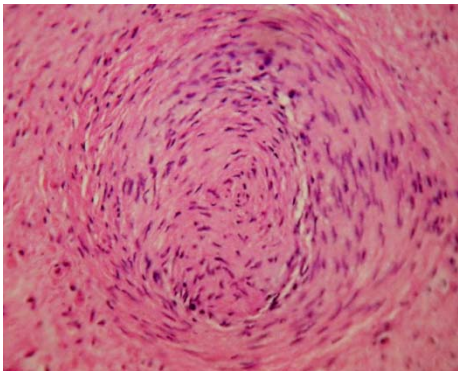


Рис. 2. Полиповидная подушка в просвете артерии. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200

Интимальная мускулатура определяется в артериях диаметром 40-100 мкм; локализуется в области поворотов и разветвлений сосудов и пред-ставлена пучками косо и продольно ориентированных *гладких миоцитов* (ГМ), расположенных во внутренней оболочке. Протяженность их наиболее выражена в артериях пупочного канатика. Сосуды с дополнительными ГМ в *tunica intima* называют замыкающими, а слой интимальной мускулатуры – функциональным [8]. В гипоплазированной П обнаружены замыкающие артерии, функциональный слой которых толще *tunica media* (см. рис.1). Артерии хориона отличаются по степени развития функционального слоя и распределению ГМ. В одних сосудах косопродольный слой миоцитов равномерно охватывает просвет, в других – развит неравномерно и имеет вид одного или нескольких валиков. Указанные образования называют подушками Эбнера [8]. Иногда они почти полностью закрывают просвет артерии. Цитоплазма их ГМ характеризуется высоким содержанием гликогена. Сосуды, содержащие в *tunica intima* косопродольно ориентированные пучки ГМ, при сокращении, способны укорачиваться и скручиваться. При этом мышечные элементы в виде подушек выбухают в просвет, снижая или блокируя движение крови. Подобные артерии могут влиять на объемный кровоток в недоразвитой плаценте и в полной мере соответствуют названию «замыкающих».

ПП (рис. 2) обнаружены преимущественно в артериях калибром 100 мкм и более. На поперечных срезах через центр ПП определяются тело и ножка. Тело имеет овальный или округлый вид; ножка связывает ПП со стенкой сосуда, ее размер и форма варьируют. Эта структура похожа на полип, с чем связано ее название [8]. ПП покрыты эндотелием, расположенным на *внутренней эластической мембране* (ВЭМ). Она не отграничивает ПП от средней оболочки, как это имеет место в подушках Эбнера, а переходит со стороны стенки на ножку и тело. Реализация функциональных потенций осуществляется при сокращении ГМ: ПП приподнимаются на ножке и выступают в просвет артерии, сокращая или прекращая гемоциркуляцию. Часто обнаруживается, что ПП и пучки интимальной мускулатуры полностью закрывают просвет (рис. 2). При расслаблении ГМ, происходит смещение ПП потоком крови в сторону и устраняется препятствие кровотоку.

Основное предназначение ДМС сводится к оптимальному распределению тока крови в П, что реализуется сосудистыми реакциями типа

«сокращение-расслабление». Это приводит в соответствие уровень кровенаполнения сосудистого бассейна с потребностью поступлении кислорода, питательных и биологически активных веществ к структурно-функциональным единицам П. На активное влияние ДМС на гемодинамику указывают результаты проведенного гистохимического анализа, согласно которым содержание в них гликогена выше, чем в ГМ средней оболочки. Отмечена повышенная активность в ДМС дыхательных ферментов и фосфатаз, свидетельствующая о напряжении окислительных процессов в ГМ, а также отражающая значительную концентрацию фосфатных соединений, обеспечивающих энергию мышечного сокращения [4].

Проведенные исследования показали, что в артериях гипоплазированной плаценты к 28-29 неделе гестации формируется комплекс регуляторных образований, основу которых составляют мощные пучки ГМ. ДМС встречаются и в группе сравнения, однако обнаруживаются реже и менее развиты. Так ПП в контроле выявлены в 10% случаев, а в основной – в 38%, т.е. в 3,8 раза чаще. П не может менять свою величину, но активно сокращается матка, со стенкой которой она связана. Мышечные реакции детского места во время беременности приводят к сдавлению ворсин хориона в различных областях П и влияют на режим микроциркуляции. Кроме того, плод, совершая движения, механически воздействует на различные зоны П, нарушая гемодинамику. В подобных условиях ДМС артерий являются тем важным элементом, который переключает кровоток в пределах сосудистого бассейна и обеспечивает на оптимальном уровне снабжение активно функционирующих котиледонов кислородом и питательными веществами [9,10].

ДМС являются важным элементом артерий П и внутренних органов плода [1,8]. При нарушении кровообращения количество и степень развития ДМС в сосудистых бассейнах возрастает. Привлекая известную в гидродинамике формулу [8], получаем возможность подвести под это предположение математическое обоснование: $P=p\pi d^2/2\cdot\sin\alpha/2$, где P – сила воздействия крови на стенку артерии в месте ответвления, p – внутрисосудистое давление, π – 3,14, d – диаметр артерии, α – угол ответвления. Если взять в одном случае угол ответвления $\alpha_1=2^o$, а в другом $\alpha_2=45^o$ и подставить в формулу различные значения α, получаем – $P_1=0{,}025d^2p$, $P_2=0{,}580d^2p$. Сила воздействия потока крови на сосуд при увеличении угла ответвления в заданных пределах возрастает в 23 раза. В отличие от прямых отрезков с ламинарным характером движения, области изгибов и делителей являются участками с завихрениями, рециркуляцией и сложным характером распределения напряжения сдвига на стенке артерий [2]. Давление (напряжение/деформация) и поток крови могут регулировать функции, дифференцировку, пролиферацию и миграцию васкулярных ГМ. Гистогенез интимальной мускулатуры определяется миграцией ГМ из средней оболочки во внутреннюю через фенестры ВЭМ под влиянием эндотелина и тромбоцитарного фактора роста [2]. В основе формирования ПП лежит инвагинация в просвет артерии внутренней и средней оболочки, либо всей сосудистой стенки вместе с *tunica externa*, которая и образует их тело.

В изученном материале закономерно обнаруживаются ишемические инфаркты П (рис. 3). Последние, по данным литературы, встречаются в последах при доношенной или переношенной беременности [3] и могут развиваться при сахарном диабете, аутоиммунных болезнях, гестозах с артериальной гипертензией, внутриутробных инфекциях у матери [9]. В проведенном исследовании какая-либо патология у матери не выявлена.

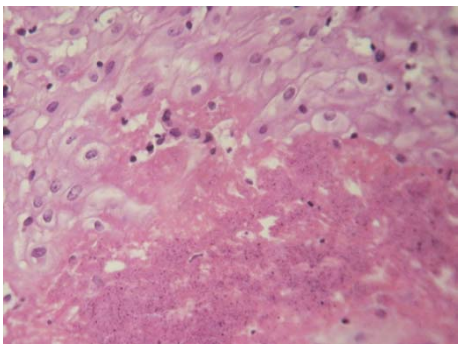


Рис. 3. Некроз стромы якорной ворсины плода 28 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 600

Известно, что причиной формирования ишемических инфарктов внутренних органов является острое снижение притока артериальной крови, сопровождающееся гипоксией и некрозом ткани [7]. Появление инфарктов П в сроки беременности 28-29 недель так же связано со структурными изменениями в кровеносных сосудах. Вероятно, ДМС артерий с течением времени претерпевают гипертрофию и пол-

ностью перекрывают просвет, что инициирует местное малокровие и развитие инфарктов П.

Заключение. В артериальном русле плаценты в условиях гипоплазии развиваются комплексы дополнительных гладкомышечных структур, оптимально распределяющие потоки крови и обеспечивающие снижение трофического и кислородного голодания плода. Гиперплазия гладких миоцитов внутренней оболочки и полиповидных подушек может полностью перекрывать просвет артерий и приводить к развитию острого или хронического малокровия детского места и, как следствие, плацентарной недостаточности и гипоксическим состояниям плода.

ADDITIONAL MUSCLE STRUCTURES OF ARTERIES AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF INFARCTS PLACENTS

A.N. GANSBURGSKY, A.V. YALTSEV, K.O. AZAROVA

Yaroslavl State Medical University, Revolution Str., 5, Yaroslavl, 150000, Russia

Abstract. 36 histological, histochemical and morphometric methods were studied in a placenta weighing 180-210 g for 28-29 weeks of gestation. Ischemic infarcts, the formation of which is characteristic for term and terminated pregnancy and some diseases of the mother, are found. The formation of additional smooth muscle arteries in the arteries of the hypoplastic placenta has been established. Intimal musculature is defined in arteries with a diameter of 40 - 100 μm; localized in the area of the rotations and branching of the vessels, is represented by beams of skew-longitudinally oriented smooth myocytes. Polypoid pillows are found in arteries caliber more than 100 microns. Additional smooth muscle formations contribute to the rational distribution of blood in the underdeveloped placenta and provide a reduction in trophic and oxygen starvation of the fetus. The increased influence of additional smooth muscle structures on hemodynamics is indicated by the increased content of glycogen in comparison with myocytes of the middle shell. Having emerged as adaptive structures, additional smooth muscle cells can hypertrophy and completely block the lumen of the arteries and impede blood flow. This contributes to the emergence of acute ischemia and premature formation of ischemic infarcts in the premature placenta. The presented morphogenesis is considered as one of the probable causes of the infarction of the provisional organ in the gestation period of 28-29 weeks.

Key words: placenta, hypoplasia, additional smooth-jumper arterial formations, ischemic infarcts.

Литература

1. Гансбургский А.Н., Яльцев А.В. Особенности морфогенеза кровеносных сосудов плода при плацентарной недостаточности беременных // Российский Вестник перинатологии и педиатрии. 2015. Т. 6, № 3. С. 45–49.

2. Гансбургский А.Н., Яльцев А.В. Морфология и плоидность гладких миоцитов артерий хориона в условиях разной гемодинамики // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 162, № 10. С. 507–510.

3. Герасимова Л.И., Васильева Э.Н., Корнилова Н.К., Денисова Т.Г. Патоморфологические особенности плацент и плацентарного ложа матки при преэклампсии // Здравоохранение Чувашии. 2014. Т. 38, № 2. С. 35–39.

References

1. Gansburgskij AN, YAl'cev AV. Osobennosti morfogeneza krovenosnyh sosudov ploda pri placentarnoj nedostatochnosti beremennyh [Features of morphogenesis of fetal blood vessels in placental insufficiency of pregnant women]. Rossijskij Vestnik perinatologii i pediatrii. 2015;6(3):45-9. Russian.

2. Gansburgskij AN, YAl'cev AV. Morfologiya i ploidnost' gladkih miocitov arterij horiona v usloviyah raznoj gemodinamiki [The morphology and the ploidy of smooth muscle cells of the arteries of the chorion in terms of different hemodynamic]. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny. 2016;162(10):507-10. Russian.

3. Gerasimova LI, Vasil'eva EHN, Kornilova NK, Denisova TG. Patomorfologicheskie osobennosti placent i placentarnogo lozha matki pri preehklampsii [Pathomorphological features of the placenta and placental bed of the uterus in preeclampsia]. Zdravoohranenie CHuvashii. 2014;38(2):35-9.

4. Киладзе А.Б., Джемухадзе Н.К. Квалиметрия в гистохимии ферментов. Вологда: Инфра-Инженерия, 2013. 128 с.

5. Кулида Л.В., Перетятко Л.П. Патоморфологические особенности плацентарной недостаточности при иммунодефицитных состояниях у новорожденных с экстремально низкой массой тела // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2011. Т. 10, № 1. С. 51–55.

6. Милованов А.П., Ерофеева Л.М., Александрович Н.В., Золотухина И.А. Строение плаценты во 2 и 3 триместрах беременности // Морфология. 2012. Т. 142, №5. С. 64.

7. Пальцев М.А., Кактурский Л.В., Зайратьянц О.В. Патологическая анатомия: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 1264 с.

8. Шорманов С.В., Павлов А.В., Гансбургский А.Н., Яльцев А.В., Куликов С.В. Адаптационные структуры артериального русла плода и плаценты в условиях хронической фетоплацентарной недостаточности // Архив патологии. 2014. Т.77, № 3. С. 41–46.

9. Щеголев А.И., Ляпин В.М., Туманова У.Н., Воднева Д.Н., Шмаков Р.Г. Гистологические изменения плаценты и васкуляризация ее ворсин при ранней и поздней преэклампсии // Архив патологии. 2016. Т.81, № 1. С. 13–18.

10. Baerger R.N. Manual of pathology of the human placenta. New York: Springer, 2011. 405 p.

11. Cocqueberi M., Bernodt S., Stgond N. Comparative etxpression of hCGβ-genes in human trophoblast from early and late first-trimester placentas // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2012. Vol. 303 (8). P. 950–958.

Russian.

4. Kiladze AB, Dzhemuhadze NK. Kvalimetriya v gistohimii fermentov [Qualimetry in the histochemistry of enzymes]. Vologda: Infra-Inzheneriya; 2013. Russian.

5. Kulida LV, Peretyatko LP. Patomorfologiche-skie osobennosti placentarnoj nedostatochnosti pri immunodeficitnyh sostoyaniyah u novorozh-dennyh s ehkstremal'no nizkoj massoj tela [Pathomorphological features of placental insufficiency in immunodeficiency in infants with extremely low body weight]. Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii. 2011;10(1):51-5. Russian.

6. Milovanov AP, Erofeeva LM, Aleksandrovich NV, Zolotuhina IA. Stroenie placenty vo 2 i 3 trimestrah beremennosti [Placental structure in the 2nd and 3rd trimesters of pregnancy]. Morfolo-giya. 2012;142(5):64. Russain.

7. Pal'cev MA, Kakturskij LV, Zajrat'yanc OV. Patologicheskaya anatomiya: nacional'noe rukovodstvo [Pathological anatomy: national guidelines]. Moscow: GEHOTAR-Media; 2011. Russian.

8. SHormanov SV, Pavlov AV, Gansburgskij AN, YAl'cev AV, Kulikov SV. Adaptacionnye struktury arterial'nogo rusla ploda i placenty v uslo-viyah hronicheskoj fetoplacentarnoj nedostatochnosti [The adaptation of the structure of the arterial system of the fetus and placenta under chronic fetoplacental insufficiency]. Arhiv patologii. 2014;77(3):41-6. Russian.

9. Shchegolev AI, Lyapin VM, Tumanova UN, Vodneva DN, Shmakov RG. Gistologicheskie izmeneniya placenty i vaskulyarizaciya ee vorsin pri rannej i pozdnej preehklampsii [The histological changes of the placenta and its vascularization of villi in early and late pre-eclampsia]. Arhiv patologii. 2016;81(1):13-8. Russian.

10. Baerger RN. Manual of pathology of the human placenta. New York: Springer; 2011.

11. Cocqueberi M, Bernodt S, Stgond N. Comparative etxpression of hCGβ-genes in human trophoblast from early and late first-trimester placentas. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2012;303 (8):950-8.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 101–106

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 101–106

УДК: 599.323.4-114.44.044 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16118

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛОФЕРОНА НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙРОАМИНОВ В БИОАМИНСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРАХ СЕЛЕЗЕНКИ

Н.Е. ГИМАЛДИНОВА[*], Е.Н. ИГНАТЬЕВА[*], Л.А. ЛЮБОВЦЕВА[*], Р.Ф. ГИМАЛДИНОВ[**], О.В. ВОРОБЬЕВА[*]

[*]ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Московский просп., д. 15, Чебоксары, Чувашская Республика, 428010, Россия

[**]БУ «Президентский перинатальный центр МЗ ЧР», Московский просп., д. 9, к. 1, Чебоксары, Чувашская Республика, 428018, Россия

Аннотация. В статье описывается распределение нейроаминов в биоаминсодержащих гранулярных люминесцирующих клетках и тучных клетках разных зон селезенки белых крыс при введении широко применяемого иммуномодулятора – циклоферона в разном временном аспекте. Циклоферон является индуктором синтеза эндогенных интерферонов. Лабораторным животным вводили циклоферон в хвостовую вену кратностью пять и десять инъекций. Криостатные срезы селезенки обрабатывали люминесцентно-гистохимическими методами на выявление биогенных аминов (гистамина, серотонина, катехоламинов). После пяти кратного введения циклоферона содержание гистамина и серотонина в гранулярных люминесцирующих клетках разных зон белой пульпы имеет тенденцию к снижению, с одновременным накоплением этих биоаминов в гранулярных люминесцирующих клетках красной пульпы селезенки. Такое число инъекций способствует активации в основном *В*-зон белой пульпы селезенки, отвечающих за гуморальное звено иммунитета. После 10-ти кратного введения циклоферона содержание гистамина и серотонина в гранулярных люминесцирующих клетках белой и красной пульпы изменяется однонаправленно, при этом наблюдаются изменения в *Т*- и *В*-зонах селезенки, что приводит к одновременной активации клеточного и гуморального иммунитета. Показатель серотонинового индекса при пяти кратном и десяти кратном введении циклоферона меньше единицы, что определяет большее содержание в клеточных структурах катехоламинов по сравнению с серотонином и может свидетельствать о сильном контроле процессов иммуногенеза в селезенке со стороны адренергического звена вегетативной нервной системы.

Ключевые слова: гранулярные люминесцирующие клетки, тучные клетки, нейроамины, гистамин, катехоламины, серотонин, серотониновый индекс.

Введение. В последнее время в детской практике часто назначаются иммуномодуляторы – препараты, имеющие ряд преимуществ: обладают широким спектром действия, высокой эффективностью, доступностью. В связи с чем, это приводит к частому, бесконтрольному их применению среди всех слоев населения и развитию, как следствие, вторичных иммунодефицитных состояний. Особый интерес вызывает применение циклоферона, так как он оказывает не только иммуномодулирующее действие, но обладает противовоспалительным и противовирусным воздействием [3]. Как известно, важное место в формировании иммунного ответа занимают нейроамины (гистамин, серотонин, катехоламины) [1,2]. Они контролируют деление, созревание и дифференцировку лимфоцитов в центральных и периферических органах иммуногенеза и кроветворения [4].

Цель исследования – изучение влияния циклоферона на распределение нейроаминов в нейроаминсодержащих структурах разных зон селезенки во временном аспекте.

Задачи исследования:

1. Определить локализацию нейроаминов: гистамина, *серотонина* (СТ), *катехоламинов* (КА) и выявить их динамику в биоаминсодержащих структурах селезенки крыс в зависимости от кратнолсти его применения.

2. Вычислить серотониновые индексы, позволяющие судить о влиянии кратности применения иммунных препаратов на интегральную биоаминную обеспеченность исследуемого органа и как следствие – на иммуногенез.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служила селезенка 30 белых крыс-самок, которые были разделены на 3 группы: первую группу составили интактные животные – без введения. Второй и третьей группе животных ежедневно вводили раствор

циклоферона в дозе 0,1 мг/кг в хвостовую вену в течение 5 и 10 дней соответственно. Селезенку изымали на 5 и 10 сутки после экзогенного введения циклоферона. Органы изымались после гильотинирования (табл. 1).

Таблица 1

Распределение животных по экспериментальным группам

	Интактные животные	Введение циклоферона №5	Введение циклоферона №10
Число животных	10	10	10

Все процедуры по уходу за крысами осуществлялись согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267).

Методы: криостатные срезы свежезамороженных органов толщиной 15 мкм исследовались: **л**юминесцентно-гистохимическим методом Кросса, Евена, Роста (1971) для выявления гистамин; люминесцентно-гистохимическим методом Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной, П.П. Александрова (1969) для избирательного выявления: КА и СТ; метод спектрофлуометрии использовался для количественного измерения содержания СТ, КА и гистамина в структурах тимуса. Количественное измерение веществ проводили на люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-4 с применением фотометрической насадки ФМЭЛ-1А с применением фотометрической насадки ФМЭЛ-1а. Для определения гистамина служил интерференционный фильтр 7 (515 нм), КА – 6 (480 нм), СТ – (525 нм). Наблюдение велось при напряжении 900 вольт с зондом 0,5. Показания снимались с измерительной части усилителя вольтметра в условных единицах (у.е.) (Карнаухов В.Н., 1978). Вычисление серотонинового индекса осуществлялось для стабилизации полученных результатов, а также для определения ведущей роли определенного БА в конкретной ситуации. Соотношение СТ и КА принято называть *серотониновым индексом* (J_s). Когда J_s больше единицы, можно говорить о преобладании в структуре СТ. Если *серотониновый индекс* меньше единицы, то в структуре преобладают КА. Статистическую обработку материала производили с помощью персонального компьютера *Pentium 200 MMX* с использованием стандартного пакета программ. Количественное распределение гранулярных клеток проводилось методом подсчета их в 5 полях зрения микроскопа при увеличении об. 40. ок. 10. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента (*t*).

Результаты и их обсуждение. Основными нейроаминсодержащими структурами селезенки являются *гранулярные люминесцирующие клетки* (ГЛК), *тучные клетки* (ТК), адренергические нервные волокна, макрофаги красной пульпы [5]. У интактных животных ГЛК выявляются в периартериальной зоне, центре размножения, мантийной зоне, маргинальной зоне и в красной пульпе селезенки (табл. 2).

После 5 дней введения циклоферона в периартериальной зоне содержание гистамина в ГЛК снижается в 1,8 раза по сравнению с нормой, а моноаминсодержащие ГЛК не выявлялись (рис. 1).

В ГЛК центра размножения содержание гистамина, КА и СТ снижается в 2,1 раза, 0,3 раза и 2,3 раза соответственно по сравнению с интактными животными. Здесь определялось максимальное содержание КА и СТ в ТК.

В мантийной зоне содержание гистамина и СТ в ГЛК одинаково снижается после введения циклоферона в среднем в 6,3 раза, а количество КА в ГЛК остается без динамики.

В маргинальной зоне содержание изучаемых биогенных аминов в ГЛК имеет тенденцию к снижению по сранению с интактными животными: гистамина – в 9,8 раз, КА – в 1,2 раза, СТ – в 8,9 раза. Катехоламинсодержащие ТК после 5 введений циклоферона определялись во всех исследуемых зонах, кроме периартериальной. В зоне центра размножения появляются гистаминсодержащие тучные клетки. В других зонах тучные клетки не определялись.

Содержание нейроаминов в ГЛК красной пульпы увеличивается после 5-ти кратного введений циклоферона. Так, значения гистамина и СТ в них увеличено в 1,2 раза. Содержание КА в ТК красной пульпы не отличалось от интактных.

Таким образом, после 5 кратного введения циклоферона содержание гистамина и СТ в ГЛК разных зон белой пульпы имеет тенденцию к снижению, с одновременным накоплением этих биоаминов ГЛК красной пульпы селезенки. Колебания КА в ГЛК красной и белой пульпы незначительные (табл. 2). Отмечается появление ТК в структурах белой пульпы селе-

зенки. В основном определяются серотонин- и катехоламинсодержащие тучные клетки. Максимальное свечение этих биоаминов регистрируется в центре размножения (рис. 2).

увеличении КА в 2,5 раза по сравнению с нормой.

Таблица 2

Интенсивность люминесценции нейроаминов в цитоструктурах селезёнки (у.е.)

Цитоструктуры	Контрольная группа			Опытная группа Введение циклоферона №5			Опытная группа введение циклоферона №10		
	Г	СТ	КА	Г	СТ	КА	Г	СТ	КА
ГЛК периар. зоны	8,1±0,1	9,2±0,2	4,3±0,1	**5,0±0,23***	-	-	*27,8±0,3*	*28,3±0,2*	*83,1±0,23*
ГЛК центра размнож.	9,8±0,2	10,8±2,2	9,8±2,0	**2,5±1,1***	**2,5±0,23***	**8,8±0,1**	**6,9±0,23**	**7,4±0,13**	*20,2±0,3*
ГЛК мант. зоны	32,4±0,02	31,2±0,6	7,1±0,25	**2,6±0,2***	**2,6±0,5***	7,1±0,2	**6,9±0,23**	**6,9±0,3**	*24,2±0,2*
ГЛК марг. зона	32,2±0,1	31,2±0,6	7,2±0,1	**2,6±0,23**	**2,4±0,23**	**3,8±0,13**	-	-	-
ГЛК красной пульпы	4,7±0,25	4,8±2,2	5,7±1,2	*6,3±0,9**	*5,1±0,7***	*5,9±0,2*	*5,1±0,2*	*5,3±0,03*	*10,1±0,12*
ТК центра размн.				*9,1±1,2**	*7,2±0,1*	*6,1±0,12*			
ТК мантийной зоны				-	*3,1±0,12*	*5,7±0,3*			
ТК маргин. зона				-	*3,3±0,2*	*5,7±0,01*			
ТК красной пульпы	7,3±0,21	4,9±0,2	2,1±0,15	-	**4,7±0,4**	*3,4±0,2*		*34,5±0,01*	*75,2±0,2*

Примечание: Г – гистамин, СТ – серотонин, КА – катехоламины ГЛК – гранулярные люминесцирующие клетки. *P*£0,05* – по сравнению с контрольной группой. *P*£0,001**– по сравнению с контрольной группой. Курсивом отмечено увеличение нейроаминов, полужирным – снижение

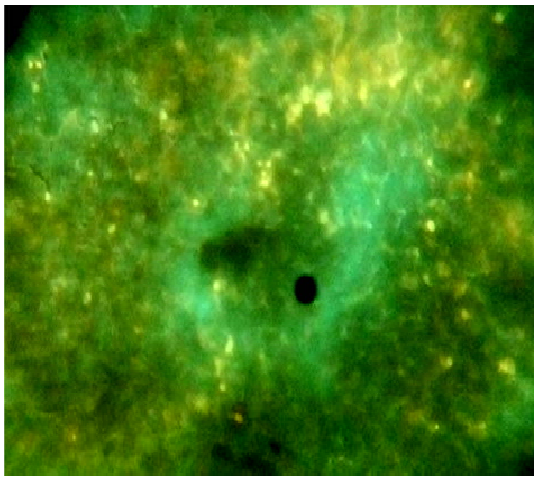


Рис. 1. ГЛК в структурах красной и белой пульпы селезенки после 5 дневного введения циклоферона. Метод. Кросса. Ув. 200

После 10 дней введения циклоферона отмечается появление увеличенного числа лимфоидных узелков, однако число ГЛК в них оказалось сниженным, но содержание всех исследуемых биогенных аминов в них увеличено. В ГЛК периартериальной зоны содержание гистамина увеличивается в 3,1 раза, КА – в 20 раз превышают показатели интактных крыс, СТ – в 3,2 раза (рис. 3).

В ГЛК центра размножения регистрируется снижение люминесценции гистамина и СТ в 1,2 и 1,3 раза соответственно, при одновременном

В ГЛК мантийной зоны изменения биоаминов сопоставимы с центром размножения. Отмечается уменьшение в ГЛК гистамина и СТ, при количественном повышении КА.

После 10 кратного введения ГЛК в маргинальной зоне не выявлялись. В ГЛК красной пульпы колебания гистамина и СТ были незначительны. Однако, люминесценция КА в ГЛК в 2 раза превышало значения интактных животных.

Гистаминсодержащие тучные клетки не выявлялись в структурах селезенки.

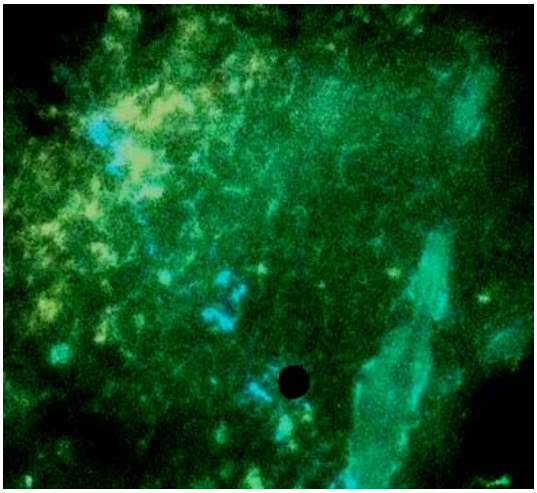


Рис. 2. ТК и ГЛК в красной и белой пульпе селезенки после 5 дней введения циклоферона. Метод Фалька. Ув. 200

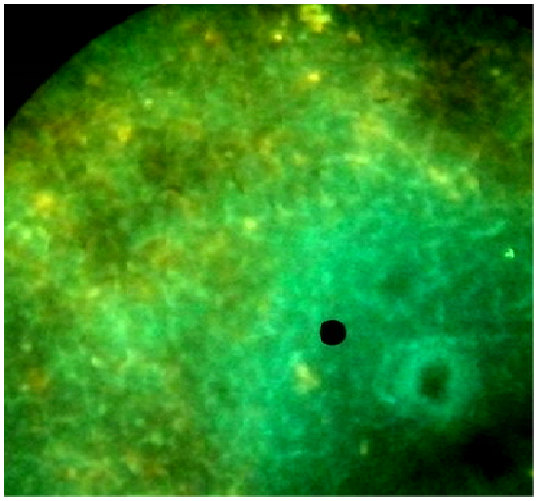


Рис. 3. ГЛК красной и белой пульпы селезенки белых крыс после 10 кратного введения циклоферона. Метод Кросса. Ув. 200

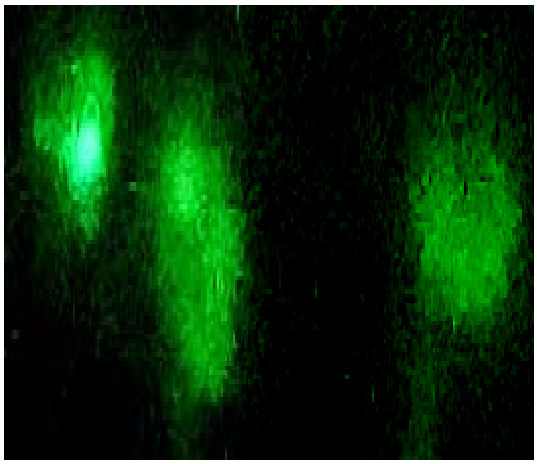


Рис. 4. ТК в красной пульпе селезенки белых крыс после 10 кратного введения циклоферона. Метод Фалька. Ув. 900

После 10-ти кратного введения циклоферона содержание КА и СТ определялось в ТК только красной пульпы, превышая показатели нормы в 7,5 и в 8 раз соответственно (рис. 4).

Таким образом, после 10-ти кратного введения циклоферона содержание гистамина и СТ в ГЛК белой и красной пульпы изменяется параллельно, либо количественным повышением, либо накоплением, либо снижением нейроаминов. Наибольшие количественные колебания отмечаются по КА, достигающим максимального значения в ГЛК периартериальной зоны. (табл. 2).

Серотониновый индекс (СИ): Значение СИ у интактных животных в ГЛК всех исследуемых зон белой пульпы селезенки и в ТК красной пульпы больше единицы, что говорит о преобладании в биоаминсодержащих структурах этого органа СТ над КА. При 5 кратном и 10 кратном введении циклоферона показатели СИ становятся меньше единицы, что по условиям метода свидетельствует о сильном контроле процессов иммуногенеза в селезенке со стороны адренергического звена ВНС (табл. 3).

Таблица 3

Серотониновый индекс в цитоструктурах селезёнки

Цитоструктуры	ГЛК			ТК		
	Интакт.	введение №5	введение №10	Интакт.	введение №5	Введение №10
Периартер. зоны	*1,8*	-	0,32			
центр размножения	*1,1*	**0,4**			*1,2*	
мантийная зоны	*4,6*	**0,4**			**0,6**	
маргинальная зона	*4,5*	**0,6**			**0,6**	
красная пульпа	**0,75**	*1,0*	**0,45**	*1,3*	**0,8**	**0,47**

Примечание: *P*£0,05* – по сравнению с контрольной группой. *P*£0,001* *– по сравнению с контрольной группой. Курсивом отмечено преобладание в клеточных структурах СТ, полужирным – преобладание КА

Выводы:

1. Максимальное содержание гистамина, КА, СТ в ГЛК регистрируется после 10 кратного введения циклоферона в периартериальной зоне белой пульпы селезенки.

2. Максимальное содержание гистамина в тучных клетках определяется в центре размножения белой пульпы селезенки после 5 кратного введения циклоферона, а максимальное содержание КА и СТ определяется после 10 кратного введения циклоферона в тучных клетках, локализованных в красной пульпе селезенки.

Таким образом, при пятикратном введении циклоферона наблюдается активация в основном *В*-зон белой пульпы селезенки, отвечающих за гуморальное звено иммунитета. При 10-и кратном введении препарата наблюдаются изменения в *Т*- и *В*-зонах селезенки, что приводит к одновременной активации клеточного и гуморального иммунитета.

THE EFFECTS OF CYCLOFERON ON THE DISTRIBUTION OF NEUROAMINES IN BIOAMINE-CONTAINING STRUCTURES OF THE SPLEEN

N.E. GIMALDINOVA[*], E.N. IGNATIEVA[*], L.A. LYUBOVTSEVA[*], R.F. GIMALDINOV[**], O.V. VOROBEVA[*]

[*]FGBOU VPO "Chuvash State I.N. Ulyanov University",
Moskovsky Av., 15, Cheboksary, Chuvash Republic, 428010, Russia
[**]Presidential Perinatal Center, "Ministry of Health of the Chuvash Republic",
Moskovsky Av., 9, building 1, Cheboksary, Chuvash Republic, 428018, Russia

Abstract. The article describes the distribution of neuroamines in bioamine-containing granular luminescent cells and mast cells of different zones of the spleen when a widely used immunomodulator, cycloferon, is administered in a different temporal aspect. Cycloferon is the inducer of the synthesis of endogenous interferons. Laboratory animals were injected with cycloferon into the tail vein with a multiplicity of five and ten injections. Cryostat sections of the spleen were treated with luminescent histochemical methods to detect biogenic amines (histamine, serotonin, catecholamines). After a five-fold administration of cycloferon, the content of histamine and serotonin in the granular luminescent cells of different areas of the white pulp tends to decrease, while the accumulation of these bioamines of the granular fluorescent cells of the red spleen pulp. This number of injections contributes to the activation of mainly in-zones of the white pulp of the spleen, responsible for the humoral link of immunity. After a 10-fold administration of cycloferon, the content of histamine and serotonin in the GLA of the white and red pulp changes unidirectionally, while there are changes in the T - and In-zones of the spleen, which leads to the simultaneous activation of cellular and humoral immunity. With a fivefold administration of cycloferon, activation of mainly the B-zones of the white pulp of the spleen responsible for the humoral immunity unit is observed. With a tenfold administration of the drug, changes are observed in the T and B zones of the spleen, which leads to simultaneous activation of cellular and humoral immunity. The index of the serotonin index at 5-fold and 10-fold administration of cycloferon is less than one, which determines the higher content of catecholamines in the cellular structures in comparison with serotonin and can be evidence of a strong control of the immunogenesis processes in the spleen from the side of the adrenergic link of the ANS.

Key words: granular luminescent cells (GLC), mast cells (MC), neuroamines, histamine (H), catecholamines (CA), serotonin (S), serotonin index (SI).

Литература

1. Воробьева О.В., Любовцева Е.В., Плюхин С.В., Любовцева Л.А. Сравнительный анализ влияния ауто- и аллогенной трансплантации костного мозга на структуры костного мозга // Морфология. 2016. Т. 149, №3. С. 127.

2. Ефремова О.А., Любовцева Л.А., Бычкова И.А., Сергеева К.А., Гамзалиева Ш.Я. Эффект воздействия красного светодиодного излучения на биоаминсодержащие структуры селезенки экспериментальных мышей // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. С. 97.

3. Исаков В.А., Романцов М.Г. Эффективность циклоферона в терапии и профилактике гриппа и ОРЗ // РМЖ. Болезни дыхательных путей. 2011. Т. 23. С. 1420–1425.

References

1. Vorob'eva OV, Lyubovceva EV, Plyuhin SV, Lyubovceva LA. Sravnitel'nyj analiz vliyaniya auto- i allogennoj transplantacii kostnogo mozga na struktury kostnogo mozga [Comparative analysis of the influence of auto - and allogeneic bone marrow transplantation on bone marrow structures]. Morfologiya. 2016;149(3):127. Russain.

2. Efremova OA, Lyubovceva LA, Bychkova IA, Sergeeva KA, Gamzalieva SHYA. EHffekt vozdejstviya krasnogo svetodiodnogo izlucheniya na bioaminsoderzhashchie struktury selezenki ehksperimental'nykh myshej [Effect of red led radiation on the bioamine-containing structures of the spleen of experimental mice]. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016;4:97. Russian.

3. Isakov VA, Romancov MG. EHffektivnost' cikloferona v terapii i profilaktike grippa i ORZ [The effectiveness of cycloferon in the treatment and prevention of influenza and ARI]. RMZH. Bolezni dykhatel'nykh putej. 2011;23:1420-5. Russian.

4. Любовцева Л.А., Любовцева Е.В., Воробьева О.В., Гималдинова Н.Е., Ефремова О.А. Возрастные и видовые различия нейроаминных структур тимуса крыс, кошек и человека // Актуальные вопросы клинической медицины. Сборник материалов региональной научно-практической конференции (к 65-летию бюджетного учреждения Чувашской Республики «Вторая городская больница» г. Чебоксары). Чебоксары, 2017. С. 177–184.

4. Lyubovceva LA, Lyubovceva EV, Vorob'eva OV, Gimaldinova NE, Efremova OA. Vozrastnye i vidovye razlichiya nejroaminnykh struktur timusa krys, koshek i cheloveka. Aktual'nye voprosy klinicheskoj mediciny. Sbornik materialov regional'noj nauchno-prakticheskoj konferencii (k 65-letiyu byudzhetnogo uchrezhdeniya CHuvashskoj Respubliki «Vtoraya gorodskaya bol'nica» g. CHeboksary) [Age and species differences of neuroamine thymus structures in rats, cats and humans. Actual issues of clinical medicine. Collection of materials of the regional scientific and practical conference (to the 65th anniversary of the budget institution of the Chuvash Republic "Second city hospital" Chebok-sary)]. CHeboksary; 2017. Russain.

5. Табаева Н.Н., Любовцева Л.А., Любовцева Е.В., Гурьянова Е.А., Гималдинова Н.Е. Влияние ауто- и изогенной пересадки костного мозга на качественное и количественное изменение биоаминсодержащих структур селезенки. // «Морфология в теории и практике» Материалы всероссийской конференции с международным участием посвященной 85-летию со дня рождения Д.С.Гордон, 2008. С. 125–126.

5. Tabaeva NN, Lyubovceva LA, Lyubovceva EV, Gur'yanova EA, Gimaldinova NE. Vliyanie auto- i izogennoj peresadki kostnogo mozga na kachestvennoe i kolichestvennoe izmenenie bioaminsoderzhashchikh struktur selezenki. «Morfologiya v teorii i praktike» Materialy vserossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem posvyashchennoj 85-letiyu so dnya rozhdeniya D.S.Gordon [The impact of auto - and isogenic transplantation of bone marrow qualitative and quantitative changes in biomesotherapy structures of the spleen. "Morphology in theory and practice" Proceedings of the all-Russian conference with international participation dedicated to the 85th anniversary of the birth of D. S. Gordon]; 2008. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 107–115

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 107–115

УДК: 577.175.824:[611.428:616-092.4]:[546.284:628.1.033] DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16120

ГИСТАМИНСОДЕРЖАЩИЕ КЛЕТКИ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.С. ГОРДОВА[*], В.Е. СЕРГЕЕВА[**], А.И. КОРШУНОВА[**], Е.А. ГРИГОРЬЕВА[**], В.А. ГОЛЕНКОВА[**], С.С. СМИРНОВА[**], О.В. ПАВЛОВА[**], С.А. ЯСТРЕБОВА[**], П.Б. КАРЫШЕВ[**], С.П. САПОЖНИКОВ[**]

[*]ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», ул. А. Невского, 14, г. Калининград, 236041, Россия e-mail: crataegi@rambler.ru
[**]ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Московский проспект, 15, 428015, Чебоксары, Россия e-mail: kaf-biology@yandex.ru

Аннотация. Обзор посвящен многолетнему изучению в лимфоидных органах лабораторных грызунов клеток, содержащих гистамин. Для выявления гистамина был применен люминесцентно-гистохимический метод Кросса, основанный на реакции взаимодействия гистамина с ортофталевым альдегидом. В экспериментах с поступлением в организм водорастворимого соединения кремния в концентрации 10 мг/л *ad libitum* с питьевой водой на сроках воздействия два и девять месяцев установлено, что интенсивность люминесценции гистамина в лимфоидных органах изменяется. В макрофагах коркового вещества долек тимуса, и в дендритных клетках на границе коркового и мозгового вещества у крыс, получавших кремний, через девять месяцев она заметно уменьшается, при этом происходит обеднение долек клетками. В селезенке интенсивность люминесценции гистамина в фолликулярных дендритных клетках и в макрофагах маргинальных синусов лимфоидных узелков возрастает, причем изменения усиливаются с продолжительностью срока воздействия. Те же изменения характерны для лимфоидных узелков подслизистой тонкого кишечника, что свидетельствует о системном действии кремния. Данные для крыс и мышей несколько разнятся. Статья также содержит иллюстративный материал, публикующийся впервые.

Ключевые слова: гистамин, тимус, селезенка, лимфоидные узелки, макрофаги, иммуногистохимия, кремний.

Введение. Гистамин (2-(4-имидазолил)-этиламин) является эндогенным биоамином короткого действия. В лимфоидных органах его источниками служат, в основном, тучные клетки, при этом базофилы, макрофаги и лимфоциты также способны к синтезу этого диамина [23,25]. На поверхности клеток, принимающих участие в специфическом и неспецифическом иммунном ответе, различают четыре подтипа *рецепторов* H_1, H_2, H_3 *и* H_4, выраженность экспрессии которых обусловлена видом клеток. Такое распределение рецепторов лежит в основе плейотропного регуляторного характера действия гистамина [9,25]. Гистамин принимает участие во взаимодействии иммунных клеток при патогенезе аутоиммунных заболеваний [25], в то время как одним из вызывающих их причинных факторов могут быть биодоступные соединения кремния [18]. В связи с этим возникают вопросы о вовлеченности гистамина в процессы, происходящие в лимфоидных органах при длительном поступлении в организм водорастворимых соединений кремния. Кафедра медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии Чувашского государственного университета на протяжении многих лет занималась изучением этого вопроса, и за годы работы мы получили, на наш взгляд, заслуживающие внимания данные.

Цель исследования – обобщение результатов исследований реакции клеток, содержащих гистамин, в лимфоидных органах лабораторных грызунов на поступление соединения кремния с питьевой водой при разных сроках воздействия.

Материалы и методы исследования. В лимфоидных органах (тимус, селезенка, подслизистые агрегированные лимфоидные узелки тонкого кишечника) лабораторных грызунов (белые нелинейные крысы и мыши), изучали реакцию клеток, содержащих гистамин, на ежедневное поступление с питьевой водой кремния в концентрации 10 мг/л в течение нескольких месяцев. Сроки воздействия и количество животных указаны в каждой публикации согласно последующим ссылкам.

Серии экспериментов проводились на протяжении семи лет, воздействие заключалось в

том, что длительное время одна (контрольная) группа грызунов получала *ad libitum* стандартизованную питьевую воду, соответствующую требованиям ГОСТ Р 52109-2003, СанПиН 2.1.4.1116-02. Вторая (подопытная) группа получала *ad libitum* ту же питьевую воду, соответствующую требованиям ГОСТ Р 52109-2003, СанПиН 2.1.4.1116-02 с добавлением химически чистого девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний. Все действия с лабораторными животными проводились согласно действующему законодательству. После выведения грызунов из эксперимента из извлеченных лимфоидных органов приготавливались криостатные срезы, которые обрабатывались по методу Кросса для выявления гистамина [22].

Суть люминесцентно-гистохимического метода Кросса, Эвена, Роста заключается в том, что в ходе реакции между парами ортофталевого альдегида и гистамином в тканях образуются производные имидазолилэтиламина, которые флуоресцируют в зависимости от количественного содержания гистамина, оттенками от голубого до лимонно-желтого. В термостат при температуре 100°*С* в предварительно разогретую камеру с парами ортофталевого альдегида криостатные срезы лимфоидных органов помещаются на 10 секунд, затем они при той же температуре переносятся в другую камеру с парами воды на две минуты, после чего высушиваются в течение 5 минут в термостате при 70°С. Для идентификации и количественного выражения содержания гистамина в лимфоидных органах использовался метод цитоспектрофлуориметрии. На люминесцентный микроскоп ЛЮМАМ-4 и *Leica* 1000 устанавливали дополнительную насадку ФМЭЛ-1А с выходным напряжением 900 В, использовали светофильтр №7 с длиной волны 515 нм. Показания снимали с табло усилителя У-5 в условных единицах флуоресценции (милливольты). Этот метод был внедрен в работу на кафедре гистологии и медицинской биологии Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова и очень хорошо зарекомендовал себя в комплексных исследованиях на протяжении многих лет [19]. Параллельно с этим часть каждого органа фиксировали в 10% нейтральном формалине для последующей заливки в парафин. Подслизистые агрегированные лимфоидные узелки тонкого кишечника забирали по методике, примененной Л. М. Яковлевой и соавт. [21].

Для обеспечения репрезентативности морфологические выборки люминесцирующих клеток производились случайным отбором, в каждом срезе измеряли интенсивность люминесценции в клетках и в их микроокружении в пяти случайных полях зрения, в двадцати клетках на каждое поле зрения, затем вычисляли среднее арифметическое значение интенсивности люминесценции гистамина в клетках для каждой морфофункциональной зоны как по каждому животному, так и в группе; для всех средних рассчитывалась стандартная ошибка среднего значения (*m*). При обработке цифрового массива и проведении анализа различий между реакциями клеток грызунов, получавших и не получавших водорастворимое соединение кремния, проводили проверку вариационных рядов на нормальность распределения. Если гипотеза о нормальности распределения не подтверждалась, использовали непараметрические критерии Вилкоксона-Манна-Уитни; если подтверждалась, то статистическую значимость различий средних величин рассчитывали с помощью программы *Microsoft Office Excel* через статистические методы ТТЕСТ, при установке хвосты=2 (использовалось двустороннее распределение), тип=3 (для неравных отклонений). Различия считали статистически значимыми при значениях $p \leqslant 0{,}05$ [12,24].

Результаты и их обсуждение. Воздействие водорастворимого кремния приводит к изменению люминесцентной морфологии лимфоидных органов. Так, у крыс контрольной группы в дольках тимуса на границе между корковым и мозговым веществом видна «рамка» лимонно-желтых клеток, которые в большинстве своем представлены дендритными клетками лимфоидного ряда, она имеет, как правило, полигонально-округлую форму и количество эти «рамок» обычно не превышает двух. В корковом веществе долек тимуса также располагаются гистаминсодержащие клетки, в большинстве своем макрофагальной природы. Что касается крыс, получавших кремний на протяжении двух месяцев, то корковое вещество долек тимуса эти животных приобретает странную форму, появляются «олимпийские кольца» скоплений округлых «рамок» по периферии дольки, центр дольки занимает неправильной, лапчатой формы мозговое вещество [9]. При этом люминесцентная морфология тимусной дольки полностью повторяет строение

дольки на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином [3,13,24]. Исследования, проводимые на медицинском факультете Чувашского государственного университета показали, что «лапчатая» форма мозгового вещества характерна для активированного клеточного или подавленного гуморального специфического иммунного ответа [14,17], и таким образом, изменение люминесцентной морфологии тимусной дольки может быть сопряжено с указанными процессами. Что касается изменения содержания гистамина в клетках на границе между корковым и мозговым веществом долек тимуса, а также в их микроокружении, то обнаруженное нами некоторое увеличение интенсивности люминесценции этого биогенного амина у крыс на сроке воздействия два месяца не является статистически значимым [9]. Это же можно сказать и о макрофагах коркового вещества долек тимуса. На сроке воздействия девять месяцев наблюдается обеднение коркового вещества долек тимуса лимфоцитами и макрофагами, некоторые дольки представляют собой остов из слабо люминесцирующих ретикулоэпителиальных клеток. При этом сохраняются найденные через 8 недель после воздействия структурные особенности тимуса с участием гистаминсодержащих клеток – «олимпийские кольца» можно увидеть на рис. 1.

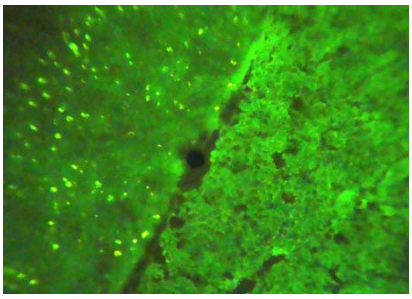


Рис. 1. Люминесцентная морфология долек тимуса крысы после девяти месяцев поступления кремния с питьевой водой. Слева от нелюминесцирующей темной полоски междольковой корковой перегородки (установлен зонд) находится долька, в которой люминесцируют клетки, содержащие гистамин, справа долька, обедненная клеточными структурами. Метод *Cross-Ewen-Rost*. Микроскоп Люмам-1. Ок.10. Об.10. Зонд 0.5.

В гистаминсодержащих клетках тимуса крыс, получавших соединение кремния с питьевой водой, на сроке 9 месяцев от начала эксперимента наблюдаются более выраженные сдвиги в интенсивности люминесценции гистамина. В тимусе крыс средняя интенсивность люминесценции гистамина в клетках между корковым и мозговым веществами долек у крыс, получавших кремний, уменьшается в три раза, в клетках коркового вещества долек – в два раза [3].

Люминесцентная морфология селезенки крыс при постановке реакции с ортофталевым альдегидом напоминает таковую при постановке реакции с параформальдегидом: клетки, содержащие нейромедиаторные биогенные амины, находятся в красной пульпе и в лимфоидных узелках. В красной пульпе это главным образом макрофаги, в лимфоидных узелках это фолликулярные дендритные клетки, люминесцирующие клетки в маргинальных синусах, последние выявляются преимущественно в весенне-летний сезон. На сроке воздействия два месяца хорошо видимых различий в люминесцентной морфологии селезенки нами не обнаружено [2], в то время как для крыс, получавших в течение девяти месяцев с питьевой водой кремний, хорошо визуализируются некоторые отличия, например, в красной пульпе селезенки макрофаги очень тусклые, немногочисленные; четко очерченные внутрифолликулярные клетки зелено-лимонного цвета. Некоторые лимфоидные узелки кажутся «пустыми», так как не содержат люминесцирующих структур или содержат их в единичных экземплярах, что отражает рис. 2.

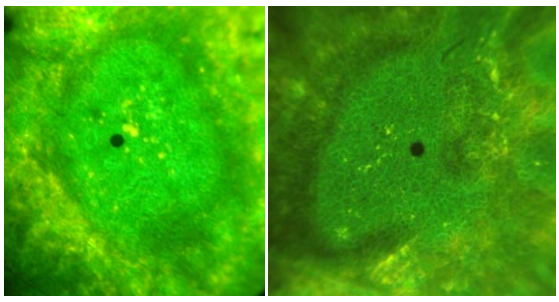


Рис. 2. Люминесцентная морфология селезенки крысы после девяти месяцев поступления кремния с питьевой водой. Слева – контроль, справа – опыт. Внутри лимфоидного узелка видны люминесцирующие желтым гистаминсодержащие клетки (установлен зонд), маргинальный синус вокруг узелка видится темным ободком, красная пульпа вокруг узелка люминесцирует оттенками желтого благодаря пульпарным макрофагам, содержащим гистамин. Метод *Cross-Ewen-Rost*. Микроскоп Люмам-1. Ок.10. Об.10. Зонд 0.5.

Поступление в организм биодоступного кремния приводит к тому, что во внутриузелковых клетках и их микроокружении статисти-

чески значимо возрастает интенсивность люминесценции гистамина [2,9], параллельно с этим в лимфоидных узелках селезенки крыс увеличивается относительная и абсолютная площадь герминативных центров [13].

Интересно, что характер изменения интенсивности люминесценции гистамина в селезенке крыс при поступлении с питьевой водой биодоступного кремния в течение двух месяцев не зависит от половой принадлежности животных, однако, для самок различия между максимальными и минимальными значениями интенсивности люминесценции гистамина были существенно меньше, чем в экспериментальной группе самцов [8]. При этом в селезенке увеличивается количество тучных клеток, выявляемых в окраске по методу Унна [6].

Поскольку содержание гистамина в микроокружении клетки способствует ее дифференцировке, в частности, усилению экспрессию костимулирующих молекул на дендритных клетках [23], относительное содержание гистамина также представляет интерес. Среднее соотношение интенсивности люминесценции гистамина между микроокружением гистаминсодержащих клеток лимфоидных узелков селезенки и этими клетками для крыс из контрольной и подопытной групп через два месяца воздействия, выраженное в процентах, составило 34 и 46% соответственно (p<0,05), через девять месяцев воздействия – 73 и 82% соответственно (p<0,05) Таким образом, реакция гистаминсодержащих клеток селезенки на поступление соединения кремния с питьевой водой в течение двух и девяти для лабораторных крыс имеет сходный характер и заключается в относительном увеличении интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении гистаминсодержащих клеток.

Отдельного внимания заслуживают подслизистые агрегированные лимфоидные узелки тонкого кишечника, ведь в них, как и в селезенке, происходит антигензависимая дифференцировка лимфоцитов. Оказалось, что два месяца поступления с питьевой водой кремния приводят к увеличению в них абсолютной и относительной площади герминативных центров, увеличивается интенсивность люминесценции гистамина как в самих клетках, так и в и микроокружении [1,4,10,13]. Через два месяца воздействия интенсивность люминесценции гистамина возрастает в гранулосодержащих клетках синусов и их микроокружении – в 1,2 раз и в 1,4 раза соответственно, во внутриузелковых клетках и их микроокружении – в 1,2 и 1,3 раза соответственно [10]. Через девять месяцев воздействия интенсивность люминесценции гистамина возрастает в гранулосодержащих клетках синусов и их микроокружении – в 2,6 раз и в 2,3 раза соответственно, во внутриузелковых клетках и их микроокружении – в 2,2 раза и 1,6 раз соответственно [4]. При этом отношение интенсивности люминесценции гистамина между микроокружением и самими клетками у крыс, получавших кремний, снижается. Оно составляет для внутриузелковых клеток и клеток синусов в контрольной группе 75% и 72% процента, а в подопытной группе – 56 и 58% процентов [1]. Что касается люминесцентной морфологии узелков, то поступление водорастворимого кремния не приводит к ярко выраженным визуальным отличиям, в то время как после девяти месяцев воздействия у крыс, получавших кремний, люминесцирующие, с гранулами желтого цвета, клетки синусов, окружающих лимфоидный узелок, крупнее, «сочнее», и светятся ярче по сравнению с таковыми у крыс контрольной группы [1,4].

Гистамин принимает участие в созревании костимулирующих молекул, необходимых для успешного процесса распознавания антигенов *Т*-лимфоцитами в комплексе с молекулами *MHCI* и *MHCII*, в свою очередь, экспрессия этих молекул свидетельствует о функциональной активности макрофагов, и в нашем случае поступление с питьевой водой кремния в течение двух месяцев меняет функциональную активность макрофагов и в тимусе, и в селезенке [15,24]. Прослеживается связь между содержанием гистамина в микроокружении антигенпрезентирующих клеток лимфоидных узелков, размерами герминативных центров в лимфоидных узелках, выраженностью экспрессии молекул *MHCII* на поверхности этих клеток. Однако, если говорить о дисперсной эндокринной системе, в которую входят макрофаги и дендритные клетки, нельзя не упомянуть и другие нейромедиаторные биогенные амины, в частности, серотонин и катехоловые амины. Нами подробно исследован серотониновый и катехоламиновый статус селезенки при изолированном и сочетанном поступлении в организм соединений кремния 10 мг/л и кальция 23 мг/л в течение двух месяцев. Оказалось, что наблюдаются реципрокные взаимоотношения между относительным содержанием гистамина, серо-

тонина и катехоловых аминов [11,12]. Такие же взаимоотношения между содержанием гистамина, катехоловых аминов и серотонина можно проследить и в лимфоидных узелках слизистой тонкого кишечника [4], а также в макрофагах собственной пластинки слизистой оболочки ворсин тонкого кишечника [5].

Несмотря на то, что к лимфоидным органам печень не относится, она богата резидентными макрофагами, которые, независимо от физического состояния соединений кремния, твердых или жидких, являются морфологическим субстратом действия этого микроэлемента. После девяти месяцев поступления в организм крыс кремния на мембране макрофагов печени увеличивается количество маркера *CD*68, в то время как средняя площадь этих клеток и количество их отростков уменьшается [7]. В печени при этом наблюдается морфологическая картина отека с расширением всех сосудов, меняется и форма печеночных долек, при этом увеличивается количество лимфоцитов и эозинофилов на поле зрения, интенсивность люминесценции гистамина в содержащих его клетках также возрастает [7,15,20]. При этом уменьшается средний размер и изменяются тинкториальные характеристики тучных клеток печени [16].

Эксперимент с поступлением кремния с питьевой водой был повторен и на мышах, срок воздействия составил три месяца. Оказалось, что у мышей реакция клеток тимуса и селезенки, содержащих гистамин, не является идентичной таковой у крыс [2], и этот факт может быть подтвержден или опровергнут только повторными исследованиями.

Заключение. В гистаминсодержащих клетка лимфоидных органов животных, получавших *ad libitum* питьевую воду с добавлением девятиводного метасиликата натрия в концентрации 10 мг/л в пересчете на кремний на сроке девять месяцев от начала эксперимента наблюдаются более выраженные количественные и качественные сдвиги в интенсивности люминесценции гистамина в структурах, содержащих этот диамин, чем на сроке воздействия два месяца. В селезенке и в подслизистых агрегированных лимфоидных узелках тонкого кишечника сохраняется увеличенная интенсивность люминесценции гистамина, а в тимусе происходит уменьшение интенсивности люминесценции. Происходящие изменения свидетельствуют о системном действии кремния и подтверждают наши первоначальные предположения [9] о том, что в лимфоидных органах оно является гистаминопосредованным. Кроме того, повышение интенсивности люминесценции гистамина в микроокружении всех гистаминсодержащих структур во вторичных лимфоидных органах позволяет предполагать, что гистамин является одним из «звеньев» в модуляции иммунного ответа соединениями кремния.

HISTAMINE CONTAINING CELLS OF LYMPHOID ORGANS OF LABORATORY RODENTS IN EXPERIMENT

V.S. GORDOVA[*], V.E. SERGEEVA[**], A.I. KORSHUNOVA[**], E.A. GRIGORIEVA[**], V.A. GOLENKOVA[**], S.S. SMIRNOVA[**], O.V. PAVLOVA[**], S.A. YASTREBOVA[**], P.B. KARYSHEV[**], S.P. SAPOZHNIKOV[**]

[*]*Immanuel Kant Baltic Federal University,*
A. Nevsky Str. 14, Kaliningrad, 236041, Russia e-mail: crataegi@rambler.ru
[**]*Shuvash State University, Moskovsky Av., 15, 428015, Cheboksary, Russia e-mail: kaf-biology@yandex.ru*

Abstract. The review is devoted to the long-term study of histamine containing cells in the lymphoid organs of laboratory rodents. The luminescent histochemical method of Cross based on the reaction of the interaction of histamine with orthophthalic aldehyde to identify histamine was used. In experiments with the intake of a water-soluble silicon compound in a concentration of 10 mg/l *ad libitum* with drinking water at exposure times of two and nine months, it was found that the intensity of histamine luminescence in lymphoid organs varies. In the thymus of rats, received silicon during nine months, in macrophages of the cortex of the thymus lobules, and in the dendritic cells along the border of the cortical and medullary substance it significantly reduced, while the lobules themselves became low in cells content. In the spleen, the intensity of histamine luminescence in the follicular dendritic cells and in the macrophages of the marginal sinuses of the lymphoid follicles increases, and the changes increase with the duration of exposure. The same changes were found for lymphoid follicles of the small intestine submucosal layer, which indicates a systemic action of silicon.

In the spleen, the intensity of histamine luminescence in follicular dendritic cells and in macrophages of marginal sinuses of lymphoid nodules increases, The same changes are characteristic for lymphoid nodules of the submucosa of the small intestine, which indicates the systemic action of silicon. The data differ for rats and mice. The article also contains illustrative material published for the first time.

Key words: histamine, thymus, spleen, lymphoid nodules, macrophages, immunohistochemistry, silicon.

Литература

1. Голенкова В.А., Смирнова С.С., Гордова В.С. Морфологическое состояние пейеровых бляшек и обеспеченность их гистамином при длительном поступлении в организм водорастворимого соединения кремния // В сборнике: XI Международная (XX Всероссийская) Пироговская медицинская конференция студентов и молодых ученых (Москва, 19 марта 2016). Москва, 2016. С. 194–195.

2. Голенкова В.А., Смирнова С.С. Нейромедиаторные биогенные амины тимуса и селезенки лабораторных грызунов при поступлении кремния в организм // Студенческая медицинская наука XXI века. II Форум молодежных научных обществ: материалы XVII междунар. науч.-практ. кон. студентов и молодых ученых и II Форума молодеж. науч. обществ (Витебск, 15-16 нояб. 2017 г.). В 2 ч. Ч. 1. / под ред. А. Т. Щастного. Витебск: ВГМУ, 2017. С. 27–29.

3. Голенкова В.А., Смирнова С.С. Гистаминсодержащие структуры тимуса лабораторных крыс при хроническом поступлении соли кремния с питьевой водой // Медиаль. 2015. №1. С.165.

4. Голенкова В.А., Смирнова С.С. Роль нейромедиаторных биогенных аминов в адаптации подслизистых агрегированных лимфоидных узелков тонкого кишечника к длительному поступлению в организм водорастворимого соединения кремния // Всероссийская научно-практическая студенческая конференция с международным участием «Медицинская весна–2016» Сборник материалов (г. Москва, 11 мая 2016 года). М.: Издательство Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, 2016. С. 116–117.

5. Гордова В.С. Нейромедиаторные биогенные амины в макрофагах кишечных ворсинок при поступлении в организм водорастворимого соединения кремния // Достижения и инновации в со-

References

1. Golenkova VA, Smirnova SS, Gordova VS. Morfologicheskoye sostoyaniye peyyerovykh blyashek i obespechennost' ikh gistaminom pri dlitel'nom postuplenii v organizm vodorastvorimogo soyedineniya kremniya [Morphological condition of Peyer's patches and their histamine supply during prolonged intake of water-soluble silicon compound]. V sbornike: XI Mezhdunarodnaya (XX Vserossiyskaya) Pirogovskaya meditsinskaya konferentsiya studentov i molodykh uchenykh (Moskva, 19 marta 2016). Moscow; 2016. Russian.

2. Golenkova VA, Smirnova SS. Neyromediatornyye biogennyye aminy timusa i selezenki laboratornykh gryzunov pri postuplenii kremniya v organizm [Neurotransmitter biogenic amines of the thymus and spleen of laboratory rodents during silicon intake]. Studencheskaya meditsinskaya nauka XXI veka. II Forum molodezhnykh nauchnykh obshchestv: materialy XVII mezhdunar. nauch.-prakt. kon. studentov i molodykh uchenykh i II Foruma molodezh. nauch. obshchestv (Vitebsk, 15-16 noyab. 2017 g.). V 2 ch. CH. 1. / pod red. A. T. Shchastnogo. Vitebsk; 2017. Russian.

3. Golenkova VA, Smirnova SS. Gistaminsoderzhashchiye struktury timusa laboratornykh krys pri khronicheskom postuplenii soli kremniya s pit'yevoy vodoy. [Histamine-containing structures of the thymus of laboratory rats with chronic intake of a silicon salt with drinking water]. Medial'. 2015;1:165. Russian.

4. Golenkova VA, Smirnova SS. Rol' neyromediatornykh biogennykh aminov v adaptatsii podslizistykh agregirovannykh limfoidnykh uzelkov tonkogo kishechnika k dlitel'nomu postupleniyu v organizm vodorastvorimogo soyedineniya kremniya [The role of neurotransmitter biogenic amines in the adaptation of small intestine submucous aggregated lymphoid nodules to long-term intake of water-soluble silicon compounds]. Vserossiyskaya nauchno-prakticheskaya studencheskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiyem «Meditsinskaya vesna–2016» Sbornik materialov (Moskva, 11 maya 2016 goda). Moscow; 2016. Russian.

5. Gordova VS. Neyromediatornyye biogennyye aminy v makrofagakh kishechnykh vorsinok pri postuplenii v organizm vodorastvorimogo soyedineniya kremniya [Neuromediator bioamines in small intestine villii ma-

временной морфологии сборник трудов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 115-летию со дня рожд. академика Давида Моисеевича Голуба: в 2-х томах. Минск: БГМУ, 2016. Т. 1. С. 96–99.

6. Гордова В.С. Характеристика тучных клеток селезенки лабораторных крыс при поступлении кремния с питьевой водой // Сборник научных трудов молодых ученых и специалистов. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2013. С. 7–11.

7. Гордова В.С., Григорьева Е.А., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т. Особенности реакции макрофагов печени на действие водорастворимого соединения кремния в эксперименте // Медицинская иммунология. 2017. №9. С. 23–24.

8. Гордова В.С., Сапожников С.П., Карышев П.Б., Сергеева В.Е. Зависимость адаптационной реакции гистаминсодержащих клеток селезенки на поступление соли кремния от половой принадлежности крыс // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XVI Всероссийского симпозиума (Сочи, Красная Поляна, 17–20 июня 2015 г.). Москва: РУДН, 2015. С. 40–41.

9. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Карышев П.Б. Гистаминсодержащие структуры лимфоидных органов лабораторных крыс при длительном поступлении кремния с питьевой водой // Материалы Международной научной школы «Наука и инновации - 2013» ISS «SI-2013» 7-12 июля 2013 г. Йошкар-Ола, 2013. С. 159–164.

10. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Карышев П.Б. Гистаминсодержащие клетки пейеровых бляшек и прилежащих к ним ворсин кишечника лабораторных крыс в хронических экспериментах с поступлением солей кремния с питьевой водой // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, №S. С. 21.

11. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Карышев П.Б., Сапожников С.П. Влияние водорастворимых соединений кальция на содержание катехоловых аминов в клетках селезенки крыс // Морфология в теории и практике: Научно-практическая конф. с международным участием, посвященная 95-летию со дня рождения д-ра медицинских наук, профессора Дины Семеновны Гордон. Чебоксары:

crophages under the silicon consumption with drinking water]. Dostizheniya i innovatsii v sovremennoy morfologii sbornik trudov nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennoy 115-letiyu so dnya rozhd. akademika Davida Moiseyevicha Goluba: v 2-kh tomakh. Minsk; 2016. Russian.

6. Gordova VS. Kharakteristika tuchnykh kletok selezenki laboratornykh krys pri postuplenii kremniya s pit'yevoy vodoy [Characteristics of mast cells of the spleen of laboratory rats upon intake of silicon with drinking water]. Sbornik nauchnykh trudov molodykh uchenykh i spetsialistov. Cheboksary; 2013. Russian.

7. Gordova VS, Grigor'yeva EA, Sergeeva VE, Smorodchenko AT. Osobennosti reaktsii makrofagov pecheni na deystviye vodorastvorimogo soyedineniya kremniya v eksperimente [Characteristics of the reaction of liver macrophages to the action of a water-soluble silicon compound in the experiment]. Meditsinskaya immunologiya. 2017;9:23-4. Russian.

8. Gordova VS, Sapozhnikov SP, Karyshev PB, Sergeeva VE. Zavisimost' adaptatsionnoy reaktsii gistaminsoderzhashchikh kletok selezenki na postupleniye soli kremniya ot polovoy prinadlezhnosti krys [Dependence of the adaptation reaction of histamine-containing spleen cells on the intake of silicon salt from the sex of rats]. Ekologo-fiziologicheskiye problemy adaptatsii: materialy XVI Vserossiyskogo simpoziuma (Sochi, Krasnaya Polyana, 17–20 iyunya 2015). Moscow; 2015. Russian.

9. Gordova VS. Sergeeva VE, Karyshev PB. Gistaminsoderzhashchiye struktury limfoidnykh organov laboratornykh krys pri dlitel'nom postuplenii kremniya s pit'yevoy vodoy // Materialy Mezhdunarodnoy nauchnoy shkoly «Nauka i innovatsii - 2013» ISS «SI-2013» 7-12 iyulya 2013 g., Yoshkar-Ola. Yoshkar-Ola; 2013. Russian.

10. Gordova VS, Sergeeva VE, Karyshev PB. Gistaminsoderzhashchiye kletki peyyerovykh blyashek i prilezhashchikh k nim vorsin kishechnika laboratornykh krys v khronicheskikh eksperimentakh s postupleniyem soley kremniya s pit'yevoy vodoy [Histamine-containing cells of Peyer's patches and intestine villii in laboratory rats in chronic experiments with the intake of silicon salts with drinking water]. Meditsinskaya immunologiya. 2015;17(S):21. Russian.

11. Gordova VS, Sergeeva VE, Karyshev PB, Sapozhnikov SP. Vliyaniye vodorastvorimykh soyedineniy kal'tsiya na soderzhaniye katekholovykh aminov v kletkakh selezenki krys [Influence of water-soluble calcium compounds on the content of catecholamines in rats spleen cells]. Morfologiya v teorii i praktike: Nauchno-prakticheskaya konf. s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennaya 95-letiyu so dnya

Изд-во Чуваш. ун-та, 2017. С. 138–143.

12. Гордова В.С., Сергеева В.Е., Карышев П.Б., Сапожников С.П. Серотониновый статус структур селезенки крыс при изолированном и сочетанном поступлении водорастворимых соединений кремния и кальция // Материалы Десятой Международной научной школы «Наука и инновации – 2015» ISS «SI-2015» 7–12 июля 2015. Йошкар-Ола, 2015. С. 190–194.

13. Гордова В.С., Тинюков А.Н., Голенкова В.А., Тихонов Д.В., Смирнова С.С. К вопросу о действии водорастворимого соединения кремния, длительно поступающего в организм с питьевой водой, на лимфоидные органы // Материалы VIII-ой Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке» 31 марта-1 апреля 2016. Казань, 2016. С. 617–620.

14. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Ястребова С.А., Ильина Л.Ю., Беляева В.С., Серова О.В. Люминесцентная морфология биоаминов тимуса в условиях иммуносупрессии // International Journal of Immunorehabilitation. 1999. № 4 . С. 81.

15. Григорьева Е.А. Реакция CD68-позитивных селезенки лабораторных крыс на длительное поступление кремния с питьевой водой // Студенческая медицинская наука XXI века. II Форум молодежных научных обществ: материалы XVII междунар. науч.-практ. кон. студентов и молодых ученых и II Форума молодеж. науч. обществ (Витебск, 15-16 нояб. 2017 г.). В 2 ч. Ч. 1. / под ред. А.Т. Щастного. Витебск: ВГМУ, 2017. С. 32–33.

16. Григорьева Е.А. Реакция тучных клеток печени крыс на длительное поступление водорастворимого соединения кремния // Сборник тезисов XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых. Москва, 2017. С. 147.

17. Ильина Л.Ю. Люминесцентногистоимическая морфология тимуса при активации и супрессии гуморального иммунитета // Микроэлементы в медицине. 2001. Т.2, №3. С. 24–29.

rozhdeniya d-ra meditsinskikh nauk, professora Diny Semenovny Gordon. Cheboksary; 2017. Russian.

12. Gordova VS, Sergeeva VE, Karyshev PB, Sapozhnikov SP. Serotoninovyy status struktur selezenki krys pri izolirovannom i sochetannom postuplenii vodorastvorimykh soyedineniy kremniya i kal'tsiya [Serotonin status of the spleen structures of rats with isolated and combined intake of water-soluble compounds of silicon and calcium]. Materialy Desyatoy Mezhdunarodnoy nauchnoy shkoly «Nauka i innovatsii – 2015» ISS «SI-2015» 7–12 iyulya 2015, Yoshkar-Ola. Yoshkar-Ola; 2015. Russian.

13. Gordova VS, Tinyukov AN, Golenkova VA, Tikhonov DV, Smirnova SS. K voprosu o deystvii vodorastvorimogo soyedineniya kremniya, dlitel'no postupayushchego v organizm s pit'yevoy vodoy, na limfoidnyye organy [To the question of the action of a water-soluble silicon compound, which enters the body with drinking water for a long time, onto the lymphoid organs]. Materialy VIII-oy Rossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem «Zdorov'ye cheloveka v XXI veke» 31 marta-1 aprelya 2016, Kazan'. Kazan; 2016. Russian.

14. Gordon DS, Sergeeva VE, Yastrebova SA, Ilyina L.Yu., Belyaeva VS, Serova OV. Luminescent morphology of thymus bioamines under conditions of immunosuppression [Lyuminestsentnaya morfologiya bioaminov timusa v usloviyakh immunosupressii]. International Journal of Immunorehabilitation. 1999;4:81. Russian.

15. Grigor'yeva EA. Reaktsiya CD68-pozitivnykh selezenki laboratornykh krys na dlitel'noye postupleniye kremniya s pit'yevoy vodoy [Reaction of CD68-positive spleen of laboratory rats to long-term intake of silicon with drinking water]. Studencheskaya meditsinskaya nauka XXI veka. II Forum molodezhnykh nauchnykh obshchestv: materialy XVII mezhdunar. nauch.-prakt. kon. studentov i molodykh uchenykh i II Foruma molodezh. nauch. obshchestv (Vitebsk, 15-16 noyab. 2017 g.). V 2 ch. CH. 1. / pod red. A. T. Shchastnogo. Vitebsk; 2017. Russian.

16. Grigor'yeva EA. Reaktsiya tuchnykh kletok pecheni krys na dlitel'noye postupleniye vodorastvorimogo soyedineniya kremniya [Reaction of mast cells of rat liver to long-term intake of a water-soluble silicon compound]. Sbornik tezisov XII Mezhdunarodnoy (XXI Vserossiyskoy) Pirogovskoy nauchnoy meditsinskoy konferentsii studentov i molodykh uchenykh Moskva, 2017. Moscow; 2017. Russian.

17. Il'ina L.YU. Lyuminestsentnogistoimicheskaya morfologiya timusa pri aktivatsii i supressii gumoral'nogo immuniteta [Luminescent-histochemical morphology of thymus during activation and sup-

pression of humoral immunity]. Mikroelementy v meditsine. 2001;2(3):24-9. Russian.

18. Сапожников С.П. Гордова В.С. Роль соединений кремния в развитии аутоиммунных процессов // Микроэлементы в медицине. 2013. N 3. С. 3–13.

18. Sapozhnikov SP. Gordova VS. Rol' soyedineniy kremniya v razvitii autoimmunnykh protsessov [The role of silicon compounds in the development of autoimmune processes]. Mikroelementy v meditsine. 2013;3:3-13. Russian.

19. Сергеева В.Е., Гордова В.С., Гордон Д.С. Люминесцентная гистохимия биогенных аминов в морфофункциональном состоянии органов и тканей в эксперименте (научно-исторический обзор) // Acta Medica Eurasica. 2017. № 3. С. 39–49.

19. Sergeeva VE, Gordova VS, Gordon DS. Lyuminestsentnaya gistokhimiya biogennych aminov v morfofunktsional'nom sostojanii organov i tkanei v eksperimente (nauchno-istoricheskij obzor) [Luminescent histochemistry of biogenic amines in the morphofunctional state of organs and tissues in an experiment (scientific and historical review)]. Acta medica Eurasica. 2017;3:39-49.

20. Смирнова С.С., Григорьева Е.А., Голенкова В.А., Тихонов Д.В., Гордова В.С. Эозинофилы как возможные регуляторы уровня гистамина в печени крыс // В сборнике: Морфология в теории и практике. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 95-летию со дня рождения доктора медицинских наук, профессора Дины Семеновны Гордон, 2017. С. 221–223.

20. Smirnova SS, Grigor'yeva EA, Golenkova VA, Tikhonov DV, Gordova VS. Eozinofily kak vozmozhnyye regulyatory urovnya gistamina v pecheni krys [Eosinophils as possible regulators of the histamine level in the liver of rats]. Morfologiya v teorii i praktike: Nauchno-prakticheskaya konf. s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennaya 95-letiyu so dnya rozhdeniya d-ra meditsinskikh nauk, professora Diny Semenovny Gordon. Cheboksary; 2017. Russian.

21. Яковлева Л.М., Карышев П.Б., Сапожников С.П. Морфофункциональные изменения слизистой оболочки тонкого кишечника у экспериментальных животных при хронической алкогольной интоксикации // Здравоохранение Чувашии. 2009. № 3. С. 52–55.

21. Yakovleva LM, Karyshev PB, Sapozhnikov SP. Morfofunktsional'nyye izmeneniya slizistoy obolochki tonkogo kishechnika u eksperimental'nykh zhivotnykh pri khronicheskoy alkogol'noy intoksikatsii [Morphofunctional changes in the mucous membrane of the small intestine in experimental animals with chronic alcohol intoxication]. Zdravookhraneniye Chuvashii. 2009;3:52-5. Russian.

22. Cross S.W.D., Ewen S.W.B., Rost F.W.D. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde // Histochem. J. 1971. Vol. 3. P. 471–476.

22. Cross SWD, Ewen SWB, Rost FWD. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde. Histochem. J. 1971;3:471-6.

23. Dy M., Schneider E. Histamine-cytokine connection in immunity and hematopoiesis // Cytokine Growth Factor Rev. 2004. Vol. 15. P. 393–410.

23. Dy M, Schneider E. Histamine-cytokine connection in immunity and hematopoiesis. Cytokine Growth Factor Rev. 2004;15:393-410.

24. Gordova V.S., Djachkova I.M., Sapozhnikov S.P., Smorodchenko A.T., Sergeeva V.E. Morphofuncional adaptacion of rat thimus structures to silicon consumption with drinking water // Bulletin Eksperimental Biology and Medicine. 2015. Vol. 158, No 6. P. 816–819.

24. Gordova VS, Djachkova IM, Sapozhnikov SP, Smorodchenko AT, Sergeeva VE. Morphofuncional adaptacion of rat thimus structures to silicon consumtion with drinking water. Bulletin Eksperimental Biology and Medicine. 2015;158(6):816-19.

25. Haas H.L., Sergeeva O.A., Selbach O. Histamine in the Nervous System // Physiol Rev. 2008. Vol. 88. P. 1183–1241. DOI: 10.1152/physrev.00043.2007

25. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. Physiol. Rev. 2008;88:1183–1241. DOI: 10.1152/physrev.00043.2007

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 116–119
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 116–119

УДК: [372.861.1:378.147.227]:611.018 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16121

КОМПЬЮТЕРНАЯ АНИМАЦИЯ КАК СПОСОБ УКРЕПЛЕНИЯ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫХ СВЯЗЕЙ АНАТОМИИ И ГИСТОЛОГИИ

В.А. ИЗРАНОВ, В.С. ГОРДОВА

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», ул. А. Невского, 14, г. Калининград, 236041, Россия e-mail: vizranov@kantiana.ru

Аннотация. Кафедра фундаментальной медицины Балтийского федерального университета в течение нескольких лет успешно применяет в преподавании нормальной и клинической анатомии анимированные презентации. Это позволяет сориентировать студента в отношении направлений, размеров, этапов развития, взаиморасположения тех или иных анатомических образований. Данные материалы с аудиосопровождением выкладываются в свободный доступ, чтобы студенты медицинского факультета могли обратиться к ним по мере возникновения потребности. Анимированные презентации помогают хорошо объяснить овариально-менструальный цикл, формирование плевральной полости и полости брюшины, а также друг за другом показать имеющиеся у органов оболочки. Кроме того, анимации полезны при изучении структур головного мозга, проводящих путей и черепно-мозговых нервов, когда требуется сформировать представление о конечных точках и особенностях хода нервных волокон между ними. Презентации с использованием анимационной графики целесообразно использовать и при чтении курса гистологии. Это позволит лучше закрепить сквозные темы и обеспечить максимальную преемственность и взаимодополнение этих морфологических дисциплин. Кроме того, использование в учебном процессе лекций на основе анимированных презентаций благоприятно отражается на формировании некоторых навыков и черт личности, необходимых врачу в профессиональной деятельности.

Ключевые слова: анатомия, образовательный процесс, гистология, методика преподавания

Введение. Согласно ФГОС ВО для медицинских специальностей дисциплины «Анатомия» и «Гистология, цитология и эмбриология» входят в блок естественно-научных дисциплин базовой части программы специалитета [3-5]. Эти параллельные дисциплины строго обязательны для освоения, при этом от степени формирования таких общекультурных компетенций как способность к анализу, синтезу и абстрактному мышлению (ОК-1) и готовность к использованию творческого потенциала, готовность к самореализации, самообразованию, саморазвитию (ОК-5) зависит дальнейшее успешное обучение и освоение материала перспективных дисциплин, в том числе и клинических. Студентам дается два семестра, чтобы сформировать представление о междисциплинарных связях между анатомией и гистологией, столько же дается преподавателям, чтобы, во-первых, показать наличие этих связей, и, во-вторых, провести конкретные параллели, чтобы данные связи закрепить. Хорошо, когда преподаватели интересуются тематическим планом смежных дисциплин, чтобы сознательно подводить студентов к осознанию того, что все фундаментальные дисциплины взаимосвязаны [6].

Цель исследования – предложить в качестве способа укрепления междисциплинарных связей по анатомии и гистологии применение в учебном процессе анимированных презентаций.

Как правило, у студентов первого курса уже сформирован навык систематизации собственных знаний и многие из них могут на слух записать информацию, предлагаемую во время лекций, однако, среди них есть те, которые предпочитают во время лекции ничего не записывать, фотографируя экран или таблицы. При обращении студента к такого рода сохраненной информации теряется, на наш взгляд, самое главное: последовательность изложения, при которой сложному предшествует простое, а последующие суждения основаны на понятийном аппарате предыдущих. Применение анимационных презентаций, например, при перечислении оболочек яичка, помогает сохранить последовательность изложения даже в случае фотографирования студентами экрана: неодинаковые по толщине линии оболочек возникают последовательно и выделены разными цветами. Если такую презентацию снабдить аудиодорожкой и выложить в открытый

доступ, то у студента появится возможность не только просмотреть серию цветных картинок, но и запомнить грамотные речевые обороты.

Анатомия и гистология имеют много междисциплинарных связей, однако, считаем нужным остановиться на тех из них, которые заслуживают более пристального внимания. Во-первых, это материал, посвященный ранним стадиям развития зародыша. Рисунок поперечного сечения зародыша человека на третьей неделе его развития – это один из первых рисунков в учебниках по анатомии человека, и вопросы об эмбриональном развитии каждого органа так или иначе входят в экзаменационные билеты по обеим дисциплинам. Во-вторых, это дублирующийся материал по темам «Кость как орган», «Мышца как орган», с которыми студенты впервые знакомятся на анатомии, а также по темам «Орган зрения» и «Орган слуха», с которыми студенты впервые знакомятся на гистологии. И, в-третьих, это информация о функции тех или иных органов, посвященная минимальной морфофункциональной единице. Это нефроны, печеночные дольки, ацинусы легких, лимфоидные узелки тонкого кишечника и так далее.

Кафедра фундаментальной медицины Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта в течение десяти лет разрабатывает и внедряет в учебный процесс авторские инновационные видеокурсы, при создании которых используется компьютерная анимация [2]. Этот материал по анатомии человека и клинической анатомии выкладывается и во внутривузовский образовательный контент, и в открытый доступ в сеть Интернет. Есть общедоступный канал профессора Изранова с лекциями по анатомии (ресурс: *https://www.youtube.com/channel/UCplc1-V3K8qH7Uvk2SvsLAA*).

Наша собственная практика показывает, что студенты, которые, готовясь к занятиям по гистологии, сначала просматривают анимированные видеолекции по спланхнологии, гораздо быстрее формируют понятие о наличии междисциплинарных взаимосвязей, лучше усваивают материал частного курса гистологии, который немыслим без знаний анатомических особенностей органов, включающих иннервацию и кровоснабжение, про которые в учебнике гистологии может быть написано мелким шрифтом в конце главы.

Анимированные изображения наглядны, доступны для понимания, оптимально подходят для объяснения процессов, протяженных во времени, например, овариально-менструального цикла (рис. 1).

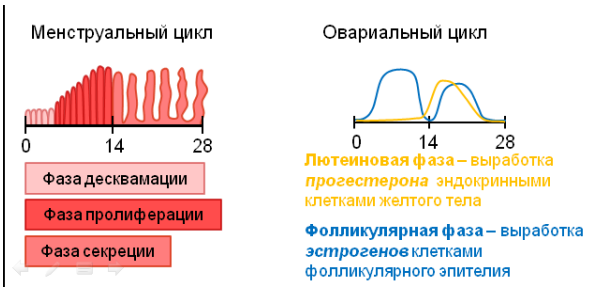


Рис.1. Процесс, хорошо объяснимый при помощи анимации на одном слайде. Овариально-менструальный цикл.

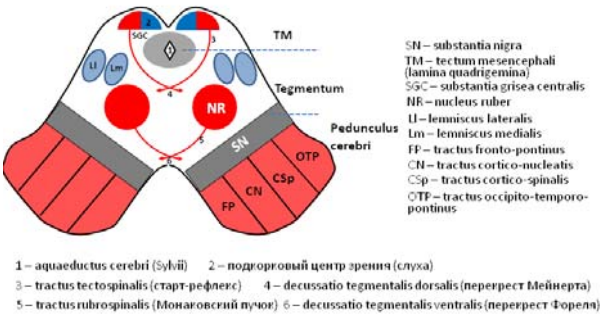


Рис. 2. Поперечный срез среднего мозга. Лекционный слайд. Заключительная стадия насыщения структурными элементами

Отдельного упоминания заслуживает нервная система. На наш взгляд, анимированные презентации незаменимы там, где речь идет о направлении, например, при изучении структур головного мозга, проводящих путей и черепно-мозговых нервов, – словом, когда требуется представить особенности хода нервных волокон между некоторыми конечными точками. Кроме того, анимированные изображения незаменимы тогда, когда требуется рассказать о насыщенных элементами структуре, например, о поперечном срезе среднего мозга (рис. 2).

Мы рекомендуем сначала изобразить общий контур, затем постепенно насыщать его теми или иными элементами, по одному выводя на экран каждый. Элементы тут же обозначаются цифрами, цифры выносятся в отдельные сноски, которые расшифровывают название появившегося элемента. Таким образом, студент видит схему органа, соотносит расположение компонентов в пространстве, имеет возможность прочитать название той или иной

структуры. Этот подход может быть полезен и при создании лекций по гистологии, и тогда структурными компонентами будут являться клетки или группы клеток, а студенты получат изображение схематического рисунка, воспроизведение которого можно будет потребовать при контроле знаний [1].

Особую актуальность применение компьютерных анимаций и создание видеофильмов приобретает в связи с обучением студентов на иностранных языках. Одни и те же анимации для русскоязычных и иностранных студентов, сохраненные в виде фильмов, помогут, с одной стороны, избежать обвинений в неравноценности объема предлагаемого материала, в уровне предъявляемых требований, а с другой стороны, позволят студентам неоднократно обращаться к тому или иному вопросу в зависимости от индивидуальных особенностей или по мере необходимости повторения темы. Наличие подобных фильмов способствует воспитанию некоторых личностных качеств, необходимых в работе врача, например, умению планировать самоподготовку в зависимости от степени усвоения материала.

Кроме того, мы рекомендуем, при подготовке лекций на сквозные темы, использовать, где это возможно, одни и те же изображения, для того, чтобы студенты могли узнать уже увиденные однажды картинки. Это поможет им соотнести знания, полученные при изучении спланхнологии во втором семестре, со знаниями, приобретаемыми при изучении частного курса гистологии в третьем семестре.

Следует признать, что предлагаемый нами способ укрепления междисциплинарных связей сопряжен с некоторыми трудностями методического характера, касающихся тонкостей преподавания каждой из дисциплин, однако, подготовку анимаций можно поручить аспирантам или активным кружковцам с последующей апробацией либо на студенческой конференции, либо на межкафедральном собрании.

COMPUTER ANIMATION AS A WAY OF STRENGTHENING INTERDISCIPLINARY CONNECTIONS ANATOMY AND HISTOLOGY

V.A. IZRANOV, V.S. GORDOVA

Immanuel Kant Baltic Federal University, A. Nevsky Str., 14, Kaliningrad, 236041, Russia e-mail: crataegi@rambler.ru

Abstract. The Department of Fundamental Medicine of the Baltic Federal University has successfully applied animated presentations in the teaching of normal and clinical anatomy for several years. This allows to orient the student in relation to the directions, size, stages of development, mutual disposition of certain anatomical formations. These audio-accompanied materials are made freely available so that medical students can refer to them as needed. Animated presentations help to explain well the ovarian-menstrual cycle, the formation of the pleural cavity and the peritoneal cavity, as well as to show the coats of organs one after another. In addition, animations are useful in studying brain structures, conductive paths and cranial nerves, when it is required to form an idea of the end points and features of the nerve fiber path between them. Presentations using animated graphics are also useful during a histology course. This will make it possible to consolidate cross-cutting themes better and to ensure maximum continuity and complementarity of these morphological disciplines. In addition, the use of lectures based on animated presentations in the educational process has a positive impact on the formation of some skills and personality traits which are necessary for professional activities of a doctor.

Key words: anatomy, educational process, histology, teaching methods.

Литература

1. Гордова В.С., Соловьева Л.М., Сергеева В.Е., Изранов В.А. Методические подходы к освоению темы «Эпителиальная ткань» // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. 2018. № 1. С. 49–56.

References

1. Gordova VS, Solov'yeva LM, Sergeyeva VE, Izranov VA. Metodicheskiye podkhody k osvoyeniyu temy «Epitelial'naya tkan'» [Methodological approaches to the learning of the topic "Epithelial tissue"]. Vestnik Baltiyskogo federal'nogo universiteta im. I. Kanta. Seriya: Yestestvennyye i meditsinskiye nauki. 2018;1:49-56. Russian.

2. Изранов В.А., Казанцева Н.В., Гордова В.С., Изранов А.В. Инновационные особенности преподавания анатомии в Балтийском федеральном университете им. Иммануила Канта // Возможности и перспективы высшего образования: опыт развития современных многопрофильных вузов: матер. IX Междунар. учеб.-метод. конф. / под ред. А. Ю. Александрова, Е. Л. Николаева. Чебоксары: изд-во Чуваш. ун-та, 2017. С. 260–264.

3. Об утверждении Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 31.05.01 Лечебное дело (уровень специалитета): Приказ Минобрнауки России от 9 февраля 2016 г. № 95.

4. Об утверждении Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета): Приказ Минобрнауки России от 9 февраля 2016 г. № 96.

5. Об утверждении Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 31.05.03 Стоматология (уровень специалитета): Приказ Минобрнауки России от 9 февраля 2016 г. № 96.

6. Сергеева В.Е., Гордова В.С., Бондаренко В.Ф., Соловьева Л.М. Понятие о структуре и функции при освоении гистологии и нормальной физиологии // Возможности и перспективы высшего образования: опыт развития современных многопрофильных вузов Александров А.Ю., Николаев Е.Л. Материалы IX Международной учебно-методической конференции. Под редакцией А.Ю. Александрова, Е.Л. Николаева. 2017. С. 292–294.

2. Izranov VA., Kazantseva NV., Gordova VS., Izranov AV. Innovatsionnyye osobennosti prepodavaniya anatomii v Baltiyskom federal'nom universitete im. Immanuila Kanta [Innovative features of teaching anatomy at the Immanuel Kant Baltic Federal University]. Vozmozhnosti i perspektivy vysshego obrazovaniya: opyt razvitiya sovremennykh mnogoprofil'nykh vuzov: mater. IX Mezhdunar. ucheb.-metod. konf. Cheboksary; 2017. Russian.

3. Ob utverzhdenii Federal'nogo gosudarstvennogo obrazovatel'nogo standarta vysshego obrazovaniya po napravleniyu podgotovki 31.05.01 Lechebnoye delo (uroven' spetsialiteta): Prikaz Minobrnauki Rossii ot 9 fevralya 2016 g. № 95.

4. Ob utverzhdenii Federal'nogo gosudarstvennogo obrazovatel'nogo standarta vysshego obrazovaniya po napravleniyu podgotovki 31.05.02 Pediatriya (uroven' spetsialiteta): Prikaz Minobrnauki Rossii ot 9 fevralya 2016 g. № 96.

5. Ob utverzhdenii Federal'nogo gosudarstvennogo obrazovatel'nogo standarta vysshego obrazovaniya po napravleniyu podgotovki 31.05.02 Pediatriya (uroven' spetsialiteta): Prikaz Minobrnauki Rossii ot 9 fevralya 2016 g. № 96.

6. Sergeyeva VE, Gordova VS, Bondarenko VF, Solov'yeva LM. Ponyatiye o strukture i funktsii pri osvoyenii gistologii i normal'noy fiziologii [The concept of structure and function in the development of histology and normal physiology]. Vozmozhnosti i perspektivy vysshego obrazovaniya: opyt razvitiya sovremennykh mnogoprofil'nykh vuzov: mater. IX Mezhdunar. ucheb.-metod. konf. Cheboksary; 2017. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 120–126

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 120–126

УДК: 616.98:578.828.6]-07:616.428-076.5 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16122

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИ ЭФФЕКТИВНУЮ АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Н.И. ГУЛЯЕВА[*], Г.Г. ФРЕЙНД[*], К.В. ШМАГЕЛЬ[**], Н.Г. ШМАГЕЛЬ[***], Л.Б. КОРОЛЕВСКАЯ[**], Е.В. САЙДАКОВА[**]

[*]ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, ул. Петропавловская, д. 26, г. Пермь, Пермский край, 614990, Россия
[**]ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, ул. Голева, д. 13, Пермь, Пермский край, 614081, Россия
[***]ГКУЗ ПК «Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», ул. Архитектора Свиязева, д. 21, Пермь, Пермский край, 614065, Россия

Аннотация. Проведено морфологическое и иммуногистохимическое исследование паховых лимфатических узлов у 12 ВИЧ-инфицированных пациентов, находящихся на лечении в ГКУЗ ПК «Пермском краевом центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», имеющих 4а стадию ВИЧ-инфекции и принимающих в течение 2-х лет антиретровирусную терапию. Эффективность антиретровирусной терапии доказана полным прекращением репликации вируса: концентрация вируса в крови больных была менее 50 копий в 1 мл. Выделены 2 группы пациентов: 1 – 6 человек, у которых количество *CD*4+ лимфоцитов в крови составляло более 350 в 1 мкл (положительный иммунологический ответ на терапию); 2-6 человек с содержанием *CD*4+лимфоцитов в крови менее 350 в 1 мкл (иммунологические неответчики). Гистологические препараты паховых лимфатических узлов готовили по обычной схеме, окрашивали гематоксилином и эозином, трехцветной окраской по Массону. В иммуногистохимических реакциях оценивали экспрессию маркеров *Ki*-67 и *CD*4+. В ходе исследования установлено исчезновение паракортикальной зоны и уменьшение размеров мозгового вещества лимфоузлов в результате массивного развития склероза в области ворот, капсулы и трабекул. На фоне склероза происходило обеднение лимфоцитами, изменение структуры стромальных клеток в результате их гипертрофии и неангиогенез во всех зонах лимфоузла. В синусах увеличивалось содержание макрофагов. В участках склероза наблюдалась гибель лимфоцитов и активизация фагоцитоза. У пациентов 2-ой группы установлено более активное развитие фолликулов с центрами размножения в корковом веществе лимфоузлов и увеличение количества клеток, экспрессирующих маркер *Ki*-67 как в корковом, так и в мозговом веществе, что свидетельствует об активации иммунного ответа у этой группы больных, не смотря на эффективную антиретровирусную терапию.

Ключевые слова: ВИЧ инфекция, антиретровирусная терапия, паховые лимфатические узлы, склероз лимфоузла, *CD*4+лимфоциты, *Ki*-67-положительные клетки.

Введение. В настоящее время проблема изучения ВИЧ инфекции остается весьма актуальной, несмотря на многочисленные исследования последних лет, что связано с высоким уровнем заболеваемости и смертности [3]. Одним из первых проявлений ВИЧ-инфекции у значительного числа инфицированных является лимфоаденопатия, которая часто становится единственным клиническим симптомом заболевания на ранних стадиях. Вирус иммунодефицита, обладая сродством к лимфоидной ткани, поражает лимфоциты и дендритные клетки лимфатических узлов, вызывает массовую гибель *CD*4+ *T*-лимфоцитов. Высоко активная *антиретровирусная терапия* (АРТ), применяемая для лечения ВИЧ инфицированных пациентов, подавляет репликацию вируса, повышает численность *CD*4+*T*-лимфоцитов крови и приводит к увеличению продолжительности жизни больных. Следует отметить, что основная часть работ, направленных на исследование состояния иммунитета при ВИЧ-инфекции проводится на клетках крови, в то время как подавляющее большинство лимфоцитов (около 98%) находится в лимфоидной ткани [14]. В настоящее время недостаточно изучены морфологические изменения лимфоидных органов

у ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих в течение длительного времени АРТ.

Цель исследования – дать оценку морфофункциональным изменениям паховых лимфатических узлов у больных 4а стадией ВИЧ инфекции, принимающих вирусологически эффективную антиретровирусную терапию.

Материалы и методы исследования. В работе исследовались *паховые лимфатические узлы* (ПЛУ) у 12 ВИЧ-инфицированных больных, находящихся на лечении в ГКУЗ ПК «Пермском краевом центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». У пациентов диагностирована 4а стадия ВИЧ-инфекции по классификации В.И. Покровского (1989). Все больные подписали письменное информационное согласие на участие в исследовании. В течение 2-х лет пациенты принимали АРТ, показателем эффективности которой явилось полное прекращение репликации вируса: концентрация вируса в крови была менее 50 копий в 1 мл. Все больные были разделены на две группы: 1 – ВИЧ-инфицированные пациенты (6 человек), у которых количество *CD*4+ *T*-лимфоцитов за время лечения превысило уровень 350 в 1 мкл крови (наличие иммунологического ответа на АРТ); 2 – ВИЧ-инфицированные (6 человек), у которых количество *CD*4+ *T*-клеток в крови за время терапии не достигло этого значения (иммунологические неответчики). *Паховые лимфатические узлы* (ПЛУ) забирали под местной анестезией, фиксировали в 4% параформальдегиде, заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, трехцветной окраской по Массону. Для определения пролиферативной активности клеток оценивали экспрессию маркера *Ki*-67, для идентификации *CD*4+ *T*-лимфоцитов – экспрессию маркера *CD*4+. Для этого использовали меченные пероксидазой моноклональные антитела, полученные от клона *MIB*-1 и клона 4*B*12 соответственно. Иммуногистохимическое окрашивание проводили по стандартной методике с использованием 3,3 диаминобензидина. Изготовление гистологических препаратов и их окрашивание проведено в лаборатории Тима Шаккера (Университет Миннесоты, США). Анализ изображения осуществляли с помощью морфометрической установки «*Olympus*». В поле зрения микроскопа при увеличении 10×100 подсчитывали все клетки и определяли процент клеток, дающих положительную реакцию на *Ki*-67 белок. Для статистического анализа использовали метод Стьюдента для независимых средних величин.

Результаты и их обсуждение. При гистологическом исследовании паховых лимфатических узлов у ВИЧ-инфицированных пациентов наблюдалось изменение гистоархитектоники органов. Под капсулой лимфоузла располагалась кортикальная зона, мозговое вещество было уменьшено в размерах, а паракортикальная зона отсутствовала. У всех пациентов наблюдался выраженный склероз в области ворот ПЛУ, а также утолщение капсулы и трабекул. Краевой и корковые синусы на большем протяжении были склерозированы. Развитие склеротических изменений, начиная от перицеллюлярного коллагеногенеза до образования крупных участков фиброза, наблюдалось во всех зонах лимфоузлов, но особенно интенсивно в области ворот и трабекул. Наличие перицеллюлярной тонкопетлистой сети коллагеновых волокон свидетельствует о продолжающемся процессе фиброзирования лимфоузлов, не смотря на двухлетнюю эффективную АРТ.

В корковом и мозговом веществе лимфоузлов происходили изменения стромальных клеток и сосудистого компонента. Во всех зонах наблюдалось формирование посткапиллярных венул, образующих многочисленные ветвления, а также образование множества тонкостенных сосудов капиллярного типа, густо располагавшихся как в корковом, так и в мозговом веществе. Активизацию эндотелиальных клеток и синтез ими ангиогенных факторов вызывает развивающаяся при склерозе гипоксия, являющаяся причиной стабилизации фактора транскрипции *HIF*-1 в эндотелии [4].

Характерной особенностью лимфоузлов явилось появление многочисленных участков с обнажением ретикулярной стромы в результате значительного снижения содержания лимфоцитов в них. Наблюдались изменения структуры стромальных клеток: некоторые из них теряли отростчатую форму, обособляясь от других клеток, другие подвергались гипертрофии и формировали кластеры. Цитоплазма стромальных клеток характеризовалась неравномерной эозинофилией и наличием в ней зернистости. Трансформация клеток стромы лимфоузлов, по мнению Цинзерлинга В.А. [5], является характерным признаком ВИЧ-инфекции на ранних стадиях заболевания. Из-

вестно также, что стромальные клетки лимфоузлов являются прямыми мишенями при некоторых вирусных инфекциях. Поражение вирусом клеток стромы приводит к их разрушению, нарушению формирования *T*- и *B*-зависимых зон, увеличению фиброза и подавлению иммунитета [13]. В синусах коркового и мозгового вещества наблюдалось увеличение количества макрофагов. В макрофагах отмечались признаки активного фагоцитоза. Согласно ранее представленной гипотезе [6], при ВИЧ инфекции макрофаги поддерживают хроническое вялотекущее системное воспаление, что обусловлено их активацией по альтернативному пути в результате воздействия на них циркулирующих иммунных комплексов. Альтернативно активированные макрофаги вызывают смещение баланса *CD*4+ *T*-клеток в сторону образования *Th*2-лимфоцитов, стимулируют фибробласты к синтезу коллагеновых волокон, следствием чего является развитие склероза.

В корковом веществе ПЛУ располагались первичные и *вторичные лимфоидные фолликулы* (ВФ) разных размеров. ВФ у пациентов 1-ой группы характеризовались малыми размерами и неправильной формой или вообще отсутствовали. А у пациентов 2-ой группы определялись крупные фолликулы с хорошо выраженными *центрами размножения* (ЦР), содержащими центробласты и центроциты, и широкой мантийной зоной, состоящей из нескольких рядов лимфоцитов. Иммунобласты и митотически делящиеся клетки практически не встречались. Большая часть клеток в ЦР экспрессировала *Ki*-67 белок. Клеточный состав коркового и мозгового вещества был представлен лимфоцитами, в основном, малыми и средними. Достаточно часто встречались большие лимфоциты, а иммунобласты выявлялись редко. Плазмобласты и плазмоциты отсутствовали в мозговом веществе, а определялись, в основном, в межфолликулярной зоне коркового вещества, где они формировали небольшие скопления. Во всех зонах равномерно располагались *Ki*-67-положительные клетки. При подсчете процентного соотношения *Ki*-67 положительных клеток среди клеток коркового вещества ПЛУ установлено, что их число в 2-ой группе больных преобладало над их количеством в 1-ой группе больных (21,6 и 12,3% соответственно, $P<0{,}001$). В мозговом веществе отмечалась такая же динамика относительного количества пролиферирующих клеток: в 1-ой группе *Ki*-67 положительные клетки составляли 11,8%, во второй – 21,2% ($P<0{,}001$). Увеличение количества *Ki*-67-положительных клеток у больных 2-ой группы, наличие в корковом веществе ПЛУ ВФ с активно пролиферирующими клетками свидетельствует об иммунной активации лимфоидной ткани.

В настоящее время известно, что в ранние стадии ВИЧ инфекции происходит активация иммунитета в результате стимуляции лимфоцитов вирусом иммунодефицита и его антигенами, а также в связи с поступлением бактериальных продуктов из кишечника через разрушенный кишечный барьер [8]. При развитии хронической фазы инфекции опустошение лимфоидной ткани кишечника ведет к увеличению в крови больных концентрации бактериальных продуктов, что сопровождается стимуляцией макрофагов и дендритных клеток, ростом концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферонов) и сывороточных маркеров воспаления в крови, что в свою очередь является причиной активации иммунокомпетентных клеток. В результате развития системного воспаления при ВИЧ инфекции поддерживается высокий уровень пролиферации лимфоцитов в лимфоузле, несмотря на проводимую АРТ, что подтверждается более высоким содержанием *Ki*-67 положительных клеток во всех зонах ПЛУ у больных 2-ой группы. У больных 2-ой группы растет скорость обновления лимфоцитов, что подтверждается увеличением числа клеток с положительной экспрессии *Ki*-67 белка. Однако отсутствие иммунобластов в фолликулах и клеток плазмоцитарного ряда в мозговом веществе говорит о нарушении процессов дальнейшей дифференцировки лимфоцитов. Изучение пролиферации *T*-лимфоцитов на фоне эффективного подавления вирусной нагрузки при АРТ показало, что она снижается по сравнению с уровнем до лечения, но полного восстановления иммунной системы у больных так и не происходит [10].

Истощение популяции *CD*4+-*T*-лимфоцитов в крови больных связано с усилением апоптоза лимфоцитов в результате их иммунной активации при ВИЧ-инфекции [9]. В наших исследованиях в участках склероза: в субкапсулярной зоне, вдоль разрастающихся трабекул и в области ворот лимфоузла определялись скопления лимфоцитов, у которых наблюдались изменения формы ядер с конденса-

цией хроматина, или фрагментация клеток с образованием апоптотических телец. Иногда в участках склероза, особенно в субкапсулярной зоне, выявлялся так называемый «краш-феномен», при котором ядра лимфоцитов приобретали вытянутую форму в виде базофильных тяжей ядерного материала, напоминающих «струи» и «потоки». Такие изменения клеток описаны при мелкоклеточном раке, когда опухолевые клетки, становясь хрупкими, легко деформируются [1]. Установлено, что *Т*-лимфоциты, пораженные ВИЧ, в лимфоузле погибают путем апоптоза через активизацию каспазы-3, в то время как лимфоциты, не пораженные вирусом, погибают путем пироптоза, при котором каспаза-1 нарушает целостность цитолеммы и вызывает некроз клетки. [11]. При этом выделяются ИЛ-1β и ИЛ-18, способствующие не только гибели большого числа лимфоцитов, но и запускающие воспалительную реакцию. В наших исследованиях апоптотические тельца в виде мелкой зернистости определялись в цитоплазме стромальных клеток и макрофагов, а также выявлялись между клетками стромы.

Развитие при ВИЧ инфекции хронического воспаления сопровождается формированием тотального склероза в лимфатическом узле, следствием которого является утрата фибробластических ретикулярных клеток, являющихся источником ИЛ-7 и других цитокинов, обеспечивающих пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов [8,16]. Затруднение доступа *Т*-лимфоцитов к ИЛ-7 нарушает процесс их самоподдержания. В исследованиях *Jacob D.* с соавт. [15] показано, что фибробластические ретикулярные клетки создают в лимфоузле трехмерную сеть, обеспечивающую перемещение и взаимодействие лимфоцитов, создающую оптимальные условия для их контакта с регуляторными факторами. Изменение морфологии и связей между стромальными клетками, перестройка сосудистого компонента нарушает синтез и распределение цитокинов, факторов роста и других посредников, обеспечивающих миграцию лимфоцитов и эффективное формирование иммунного ответа. Более того, развитие склеротических процессов в лимфоузле при ВИЧ-инфекции приводит к гипоксии [12], создающей условия для гибели лимфоцитов. Гипоксия способствует неоангиогенезу, обеспечивающему усиленный приток лимфоцитов, в том числе *T-reg*, которые синтезируют *трансформирующий ростовый фактор β1*(*TGF-β1*), активизирующий фибробласты к синтезу коллагена. Известно [2], что дефицит ИЛ-7 снимает его ингибирующее влияние на функцию *T-reg* лимфоцитов. Высокий уровень продукции *TGF-β1* был обнаружен у зараженных вирусом иммунодефицита макак и у пациентов с ВИЧ-инфекцией, что сопровождалось усилением синтеза коллагеновых волокон в лимфоидной ткани [17]. Продукция факторов, способствующих развитию склероза в лимфоузлах, осуществляется также пораженными при ВИЧ инфекции макрофагами [6], которые при взаимодействии с апоптотическими клетками активно продуцируют *TGF-β1*.

Иммунная активация лимфоцитов в условиях гипоксии и дефицита регуляторных факторов в результате развития склероза приводит клетки к гибели. Массовая гибель лимфоцитов, наблюдаемая особенно в зонах склеротических изменений лимфоузла, возможно, является причиной значительного снижения концентрации *Т*-лимфоцитов в крови. В ранее проведенных [7] исследованиях с помощью проточной цитофлуориметрии установлено, что уменьшение числа лимфоцитов в периферической крови происходит за счет наивных *CD*4+ лимфоцитов. Дефицит *CD4+ T*-клеток индуцирует процесс гомеостатической пролиферации. Это может происходить как за счет влияния *IL*-7, так и за счет образования при разрушении клеток внеклеточной ДНК, циркулирующей во всех жидких средах организма [2]. Анализ экспрессии маркера *Ki*-67 показал, что деление наивных *CD*4+ *T*-клеток в лимфатическом узле протекает значительно более интенсивно по сравнению с кровью. Пролиферирующие лимфоциты, не получая дальнейших стимулов к дифференцировке в результате поражения стромальных клеток и развития склеротических процессов в лимфоузле, подвергаются гибели путем апоптоза или некроза, а «обломки» апоптотировавших элементов фагоцитируются стромальными клетками и тканевыми макрофагами. В результате массивной гибели активированных клеток лимфатический узел становится «кладбищем» для лимфоцитов. При иммуногистохимическом определении лимфоцитов, экспрессирующих маркер *CD*4+, слабое положительное окрашивание выявлялось лишь в лимфоцитах, расположенных в синусах лимфоузла. Во всех зонах ПЛУ, исключая мантийную зону ВФ, стенки сосудов и участки склероза, положительная реакция на *CD*4+ лимфо-

циты определялась в виде мелкой зернистости в цитоплазме стромальных клетках и макрофагов синусов. Создавалось впечатление, что осуществляется фагоцитоз стромальными клетками всех зон *CD*4+-лимфоцитов, подвергшихся массивному разрушению.

Таким образом, согласно современной концепции [9] высокий уровень гибели *Т*-лимфоцитов в лимфоузлах определяется не столько прямым действием вируса на *Т*-лимфоциты, сколько иммунной активацией *CD*4+ *Т*-лимфоцитов в результате действия разных факторов, в том числе и развитием хронического воспаления. Результатом воспаления является формирование склеротических процессов в лимфатическом узле, приводящих к нарушению взаимодействия лимфоцитов и стромальных клеток. Развитие склеротических процессов в лимфоузле вызывает гибель *Т*-лимфоцитов, которые в свою очередь являются источником образования лимфотоксина-β, необходимого для формирования системы коммуникаций в лимфатическом узле [17]. Уменьшение количества *CD*4+ *Т*-лимфоцитов сопровождается дефицитом лимфотоксина-β и приводит к потере уже самих фибробластических ретикулярных клеток. Утрата стромальных клеток в лимфоузле сопровождается снижением концентрации цитокинов, необходимых для самоподдержания *Т*-лимфоцитов.

Выводы:

1. В ПЛУ ВИЧ-инфицированных больных обеих групп наблюдается изменение гистоархитектоники в результате развития склероза, захватывающего все зоны лимфоузла.
2. При ВИЧ инфекции, несмотря на эффективную АРТ, в ПЛУ отмечается изменение строения стромальных клеток, увеличение содержания макрофагов и активизация их фагоцитарной активности.
3. У всех пациентов, получающих АРТ, происходит гибель лимфоцитов, более выраженная в участках склероза.
4. У пациентов, являющихся иммунологическими неответчиками на АРТ (2-ая группа), наблюдается более выраженная активация иммунитета, проявляющаяся в развитии вторичных лимфоидных фолликулов в корковом веществе и более высоком уровне пролиферации лимфоцитов по сравнению с пациентами, дающими положительный иммунологический ответ на АРТ (1-ая группа).

MORPHOFUNCTIONAL SPECIFITIES OF LYMPH NODES IN HIV-INFECTED PATIENTS ON VIROLOGICALLY EFFICIENT ANTIRETROVIRAL THERAPY

N.I. GULYAEVA[*], G.G. FREIND[*], K.V. SHMAGEL[**], N.G. SHMAGEL[***], L.B. KOROLEVSKAYA[**], E.V. SAIDAKOVA[**]

[*] *Perm State E. A. Wagner Medical University of the Ministry of health of the Russian Federation, Petropavlovsk Str., 26, Perm, Perm region, 614990, Russia*
[**] *Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural branch of the Russian Academy of Sciences, Golev Str., 13, Perm, Perm region, 614081, Russia*
[***] *Perm Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Architect Sviyazev Str., 21, Perm, Perm region, 614065, Russia*

Abstract. Morphological and immune-histhochemical studies of inguinal lymph nodes were carried out in 12 HIV-infected patients in Perm regional centre for AIDS prevention and control. All the patients had advanced HIV infection and had been receiving antiretroviral therapy (ART) for 2 years. ART effectively suppressed viral replication to less than 50 copies/ml. The patients were divided into two groups. The first group included 6 people with optimal immune response to therapy (CD4+ lymphocytes > 350/μl) and the second group – 6 people without significant immune reconstitution (CD4+ lymphocytes < 350/μl). Histological specimens of inguinal lymph nodes were prepared in the usual way. They were stained with hematoxyline, eosin, and Masson's Trichrome. Immuno-histhochemical techniques were used to count the expression of Ki-67 and CD4+ markers. The studies revealed paracortex loss and reduction of medulla in lymph nodes due to the massive development of sclerosis in hilum, capsule and trabeculae. Secondary to sclerosis there were decrease in the number of lymphocytes, changes in the structure of stromal cells as a result of their hypertrophy, and anti-angiogenesis in all parts of lymph nodes. The content of macrophages in sinuses increased. In the areas affected by sclerosis death of lymphocytes and intensification of phagocytosis

were observed. In the patients of the second group more active development of follicles with germinal centres in the cortex and increase in the number of Ki-67 expressing cells both in cortex and medulla were found. This indicates activation of immune response in the patients of this group, despite the effective ART.

Key words: HIV infection, antiretroviral therapy, inguinal lymph nodes, lymph node sclerosis, CD4+ lymphocytes, Ki-67+ cells.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер гос. регистрации темы: 01201353248. Авторы выражают благодарность Тиму Шаккеру (Университет Миннесоты, США) за помощь в работе.

Литература

1. Должанский О.В., Каабах М.М., Соловьева С.Е. Диссеминированный комбинированный мелкоклеточный рак с поражением трансплантатов после пересадки почек от умершего донора двум больным // Архив патологии. 2017. №6. С. 53–59.

2. Козлов А.В. Гомеостатическая пролиферация как основа неизбежного формирования тотального иммунодефицита // Мед. Иммунология. 2014. №5. С. 403–407.

3. Морфологические аспекты ВИЧ-инфекции. Под ред. Ю.Г. Пархоменко, Ю.Р. Зюзя, А.И. Мазус. М.: Литтерра, 2016. 168 с.

4. Раденска-Лоповок С.Г., Корзенёва Е.Г., Алекперов Р.Т. Ангиогенез и его связь с воспалением и фиброзом в ходе развития системной склеродермии // Архив патологии. 2015. №2. С. 56–60.

5. Цинзерлинг В.А., Комарова Д.В., Васильева М.В. Патологическая анатомия ВИЧ-инфекции по материалам Санкт-Петербурга // Архив патологии. 2003. №1. С. 42–44.

6. Шмагель К.В., Королевская Л.Б., Черешнев В.А. Роль иммунных комплексов в активации иммунокомпетентных клеток при ВИЧ-инфекции (гипотеза) // Иммунология. 2014. №2. С. 117–120.

7. Шмагель К.В., Шмагель Н.Г., Королевская Л.Б. Сравнение субпопуляционного состава Т-лимфоцитов периферической крови и лимфатических узлов у ВИЧ-инфицированных пациентов // Российский иммун. журнал. 2016. №2. С. 404–406.

References

1. Dolzhanskij OV, Kaabah MM, Solov'eva SE. Disseminirovannyj kombinirovannyj melkokletochnyj rak s porazheniem transplantatov posle peresadki pochek ot umershego donora dvum bol'nym [Disseminated small cell lung cancer combined with damage to the grafts after transplantation of a kidney from a deceased donor to two patients]. Arhiv patologii. 2017;6:53-9. Russian.

2. Kozlov AV. Gomeostaticheskaya proliferaciya kak osnova neizbezhnogo formirovaniya total'nogo immunodeficita [Homeostatic proliferation as the basis of the inevitable formation of total immunodeficiency]. Med. immunologiya. 2014;5:403-7. Russian.

3. Morfologicheskie aspekty VICH-infekcii [Morphological aspects of HIV infection.]. Pod red. YU.G. Parhomenko, YU.R. Zyuzya, A.I. Mazus. Moscow: Litterra; 2016. Russian.

4. Radenska-Lopovok SG, Korzenyova EG, Alekperov RT. Angiogenez i ego svyaz' s vos-paleniem i fibrozom v hode razvitiya sis-temnoj sklerodermii [Angiogenesis and its relation to inflammation and fibrosis in the course of systemic scleroderma]. Arhiv patologii. 2015;2:56-60. Russian.

5. Cinzerling VA, Komarova DV, Vasil'eva MV. Patologicheskaya anatomiya VICH-infekcii po materialam Sankt-Peterburga [Pathological anatomy of HIV infection based on the materials of St. Petersburg]. Arhiv patologii. 2003;1:42-4. Russian.

6. SHmagel' KV, Korolevskaya LB, CHereshnev VA. Rol' immunnyh kompleksov v aktivacii immunokompetentnyh kletok pri VICH-infekcii (gipoteza) [The role of immune complexes in activation of immunocompetent cells in HIV infection (hypothesis)]. Immunologiya. 2014;2:117-20. Russian.

7. SHmagel' KV, SHmagel' NG, Korolevskaya LB. Sravnenie subpopulyacionnogo sostava T-limfocitov perifericheskoj krovi i limfaticheskih uzlov u VICH-inficirovannyh pacientov [Comparison of the subpopulation composition of peripheral blood T-lymphocytes and lymph nodes in HIV-infected patients]. Rossijskij immun. zhurnal. 2016; 2:404-6. Russian.

8. Шмагель Н.Г., Шмагель К.В., Королевская Л.Б. Системное воспаление и повреждение кишечного барьера при эффективном лечении ВИЧ-инфекции // Клиническая медицина. 2016. №1. С. 47–51.

9. Черешнев В.А., Шмагель К.В., Королевская Л.Б. Влияние коинфекции вирусом гепатита на активацию и апоптоз Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих антиретровирусную терапию // Иммунология. 2013. №4. С. 236–241.

10. Anthony K.B., Yoder C., Metcalf J.A. Incomplete CD4 T cell recovery in HIV-1 infection after 12 months of highly active antiretroviral therapy is associated with ongoing increased CD4 T cell activation and turnover // Immunology. 2003. № 2. P. 125–133.

11. Doitsh G., Galloway N.L.K., Geng X. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection // Nature. 2014. Vol. 7484. P. 509–514.

12. Durudas A., Milush J.M., Chen H.L. Elevated levels of innate immune modulators in lymph nodes and blood are associated with more-rapid disease progression in simian immunodeficiency virus-infected monkeys // J. Virol. 2009. Vol. 23. P. 12229–12240.

13. Fletcher A.L., Acton S.A., Knoblich K. Lymph node fibroblastic reticular cells in health and disease. Nature Reviews Immunology // AOP, published online 22 May 2015; DOI: 10.1038/nri3846.

14. Ganusov V.V., De Boer R.J. Do most lymphocytes in humans really reside in the gut? // Trends Immunol. 2007. Vol. 28. P. 514–518.

15. Jacob D.E., Haaseb A.T., Schacker T.W. The role of collagen deposition in depleting CD4+ T cells and limiting reconstitution in HIV-1 and SIV infections through damage to the secondary lymphoid organ niche // Seminars in Immunology. 2008. Vol. 20. P. 181–186.

16. Link A., Vogt T.K., Favre S. Fibroblastic reticular cells in lymph nodes regulate the homeostasis of naive T cells // Nat. Immunol. 2007. Vol. 11. P. 1255–1265.

17. Zeng M., Smith A.J., Wietgrefe S.W. Cumulative mechanisms of lymphoid tissue fibrosis and T cell depletion in HIV-1 and SIV infections // J. Clin. Invest. 2011. Vol. 3. P. 998–1008.

8. SHmagel' NG, SHmagel' KV, Korolevskaya LB. Sistemnoe vospalenie i povrezhdenie kishechnogo bar'era pri ehffektivnom leche-nii VICH-infekcii [Systemic inflammation and damage to the intestinal barrier in the effective treatment of HIV infection]. Klinicheskaya medicina. 2016;1:47-51. Russian.

9. CHereshnev VA, SHmagel' KV, Korolevskaya LB. Vliyanie koinfekcii virusom gepatita na aktivaciyu i apoptoz T-limfocitov u VICH-inficirovannyh pacientov, poluchayu-shchih antiretrovirusnuyu terapiyu [Effect of co-infection with hepatitis virus on activation and apoptosis of T-lymphocytes in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy]. Immunologiya. 2013;4:236-41. Russian.

10. Anthony KB, Yoder C, Metcalf JA. Incomplete CD4 T cell recovery in HIV-1 infection after 12 months of highly active antiretroviral therapy is associated with ongoing increased CD4 T cell activation and turnover. Immunology. 2003;2:125-33.

11. Doitsh G, Galloway NLK, Geng X. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. Nature. 2014;7484:509-14.

12. Durudas A, Milush JM, Chen HL. Elevated levels of innate immune modulators in lymph nodes and blood are associated with more-rapid disease progression in simian immunodeficiency virus-infected monkeys. J. Virol. 2009;23:12229-40.

13. Fletcher AL, Acton SA, Knoblich K. Lymph node fibroblastic reticular cells in health and disease. Nature Reviews Immunology | AOP, published online 22 May 2015; DOI: 10.1038/nri3846.

14. Ganusov VV, De Boer RJ. Do most lymphocytes in humans really reside in the gut? Trends Immunol. 2007;28:514-8.

15. Jacob DE, Haaseb AT, Schacker TW. The role of collagen deposition in depleting CD4+ T cells and limiting reconstitution in HIV-1 and SIV infections through damage to the secondary lymphoid organ niche. Seminars in Immunology. 2008;20:181-6.

16. Link A, Vogt TK, Favre S. Fibroblastic reticular cells in lymph nodes regulate the homeostasis of naive T cells. Nat. Immunol. 2007;11:1255-65.

17. Zeng M, Smith AJ, Wietgrefe SW. Cumulative mechanisms of lymphoid tissue fibrosis and T cell depletion in HIV-1 and SIV infections. J. Clin. Invest. 2011;3:998-1008.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 127–130
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 127–130

УДК: 616.5-002.72-092:616.1 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16123

ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА В ПИОГЕННОЙ ГРАНУЛЕМЕ

О.Н. ГУСЬКОВА, О.Н. СКАРЯКИНА

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, ул. Советская, д. 4, Тверь, Тверская обл., 170100, Россия, e-mail: tvergma.patan@yandex.ru

Аннотация. Пиогенная гранулема относится к сосудистым образованиям. Этиопатогенез ангиоматоза в ткани пиогенной гранулемы до настоящего времени остается предметом дискуссий среди патологоанатомов в связи с отсутствием единой научно обоснованной теории и выделением двух противоположных точек зрения в отношении воспалительной и (или) неопластической природы. **Цель исследования:** изучение особенностей ангиогенеза в ткани пиогенной гранулемы. **Методы исследования:** проведен анализ биопсийного материала, полученного от 86 пациентов с ангиоматозными образованиями. Оценены особенности морфологического строения и морфометрические параметры сосудистого и стромального компонентов, проведено изучение экспрессии маркеров пролиферации, апоптоза и гемопоэтических клеток. **Результаты.** Пиогенная гранулема характеризуется выраженным полиморфизмом сосудистого компонента. Выявленные особенности капилляризации позволяют выделить три варианта гистологического строения, которые отражают морфогенетические изменения васкуляризации при созревании и персистенции грануляционной ткани. Сопоставление морфометрических показателей выделенных вариантов показало наличие статистически значимых различий. **Заключение.** Кровеносные сосуды пиогенной гранулемы имеют морфологические особенности, отличающие ее как от грануляционной ткани, так и от капиллярной гемангиомы, что свидетельствует в пользу дисрегенераторной теории ангиогенеза.

Ключевые слова: пиогенная гранулема, патогенез, ангиогенез, пролиферация, воспаление.

Введение. Любые повреждения тканей и органов сопровождаются оксидативным стрессом, который на уровне клеточно-матриксных взаимодействий способствует формированию провоспалительного статуса. При этом запускается гамма молекулярных процессов, инициирующих развитие воспалительной реакции, клеточной пролиферации и регенерации. Разнообразные нарушение регулирования и координации регенераторных процессов сопровождаются пространственно-временную дезорганизацию стромы, что препятствует формированию плотных контактов между эндотелиальными клетками и детерминирует структурно-функциональную гетерогенность сосудов [3].

Пиогенная гранулема (ПГ) с точки зрения морфологов представляет собой сосудистое образование, осложненное гранулематозной реакцией вследствие пиодермии [2]. Этиопатогенез ангиоматоза в ткани пиогенной гранулемы до настоящего времени остаются предметом дискуссий среди патологоанатомов в связи с отсутствием единой научно обоснованной теории и выделением двух противоположных точек зрения в отношении воспалительной и (или) неопластической природы [1,4].

Цель исследования – изучение морфологических особенностей ангиогенеза в пиогенной гранулеме.

Материалы и методы исследования. Из биопсийного материала патологоанатомического отделения клиники ТГМУ исследовали 86 образцов пиогенной гранулемы. Гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, исследовали в световом микроскопе *Eclips E 200, Nikon* (Япония) с использованием цифровой фотокамеры Infinit, при помощи которой оптическое изображение переводилось в цифровое для последующей морфометрии. Иммуногистохимические реакции проводили по стандартому протоколу. Для визулизации использовали компоненты системы *NovoLink Polymer Detection Sistem* (500 *test*) фирмы «*Novocastra*» (Великобритания). Были использованы первичные антитела (*Ki*-67 клон *MIB-1*(*Dako*), Дания; *Bcl*-2 клон 124 (*Dako*), Дания; *CD*-34 «Новокастра» Великобритания). Результаты реакции оценивали на большом увеличении полуколичественным методом. Морфометрическое исследование выполняли с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений ВидеоТест-Морфология 5.2. В каждом препарате изучали 30 полей зрения микроскопа (об. 40, ок.10): измеряли диа-

метр, количество, численную плотность сосудов и соотношение стромального и сосудистого компонентов с пересчетом на 1 мкм² площади. Статистически обработку данных проводили с применением программы *SPPS*, версия 22,0. Для определения типа распределения количественных данных использовали критерий Шапиро-Уилка (n<50). Данные представлены как *среднее арифметическое* (*Sx*) и *стандартное отклонение* (σ). Для сравнения средних значений в независимых группах применяли критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ. Критический уровень статистической значимости принимался за 0,05 (p).

Результаты и их обсуждение. Макроскопически все исследованные образования имели вид узелка диаметром 0,2-3 см грибовидной или куполообразной формы, в большинстве случаев (81%) на широком основании.

При обзорной микроскопии в 62% наблюдений выявлено изъязвление покровного эпителия с реактивными изменениями в краях язвенного дефекта и явлениями акантоза с дубликатурой эпителиального пласта и формированием характерного «воротничка» (85%) по периферии образования. В субэпителиальных отделах отмечалось очаговое скопление полиморфных сосудистых полостей капиллярного типа, разделенных прослойками интерстиция различного морфологического строения и объема. Учитывая особенности структурного строения, изученные образцы ПГ были разделены на три группы: с преобладанием участков грануляционного типа (35%), с преобладанием участков напоминающих капиллярную гемангиому (45%) и с выраженным фиброматозом (20%).

Образования первой группы микроскопически характеризовались наличием многочисленных анастомозирующих капилляров и венул с наличием в некоторых образованиях очагового скопления сосудов артериального типа. В строме отмечался выраженный отек и диффузная смешанно-клеточная воспалительная инфильтрация с преобладанием макрофагов и сегментоядерных лейкоцитов.

Образцы второй группы отличались дольчатым строением с формированной «сосудистой ножкой». Каждая долька состояла из скоплений разнокалиберных извитых пролиферирующих капилляров, разделенных тонкими соединительнотканными перегородками с центрально расположенным сосуда крупного диаметра. В большинстве наблюдений были выявлены дефекты покровного эпителия в виде изъязвления или десквамации с выраженной подлежащей инфильтрацией интерстиция полинуклеарными лейкоцитами, лимфоцитами и плазмоцитами с примесью эозинофилов и макрофагов.

Третья группа наблюдений характеризовалась наличием большого числа мелких сосудов с утолщенной гиализированной стенкой. В покровном эпителии присутствовали обширные участки атрофии. В фиброзированной строме отмечалась лимфоцитарная инфильтрация, выраженная неравномерно от слабой до умеренной.

Результаты морфометрического исследования выделенных групп представлены в табл.

Таблица

Морфометрические показатели сосудистого компонента пиогенной гранулемы

Выделенные группы / Сосудистый компонент	Пиогенная гранулема		
	I (n=30)	II (n=39)	III (n=17)
Средний диаметр сосудов, мкм *	8±1,2	7,0±1,6	14±3,2
Max диаметр сосудов, мкм	17±1,2	11,1±1,6	18±3,2
Min диаметр сосудов, мкм	5,9±1,2	4,2±1,6	5,6±3,2
Количество Капилляров 2-5 мкм * % от общего числа сосудов	19,0±4,5 37%	21,0±5,7 40%	32,0±4,5 94%
Количество Капилляров 6-10 мкм* % от общего числа сосудов	21,0±4,2 40%	22,0±5,52 42%	1,0±0,8 3%
Количество Капилляров ⩾10 мкм * % от общего числа сосудов	12±4,1 23%	10±3 ,67 18%	1,0±1,2 3%
Численная плотность сосудов *	0,0024±0,000084	0,0033±0,00023	0,0022±0,0001
Соотношение стромы и сосудов*	34,13±0,23	24,45±0,29	39,12±0,27

Примечание: – использовали t-тест Стьюдента;
* – различия значимы при p<0,05

Анализ полученных результатов морфометрического исследования выявил статистически значимые различия между группами, что дает основание выделять три варианта гистологического строения пиогенной гранулемы: *грануляционный* (ГПГ), *ангиоматозный* (АПГ) и *фиброматозный* (ФПГ). В ГПГ и АПГ, наряду с одинаково часто встречающимися (37-40%) мелкими и средними капиллярами, 18-23% со-

судов имели диаметр более 16 мкм, в ФПГ превалировали капилляры диаметром 6-9 мкм (87%). По мере созревания грануляционной ткани. В строении всех вариантов ПГ отмечено преобладание стромального компонента. Однако, в АПГ его выраженность в 1,8 раза меньше по сравнению с ГПГ и ФПГ (p<0,05). Вместе с тем, значительный объем стромы в ГПГ был обусловлен выраженной воспалительной инфильтрацией и отеком. Общее число сосудов в единице площади было схожим в ГПГ и АПГ (51и 53 соответственно) и значительно уменьшено в ФПГ (34). При этом большинство сосудов отличались резко утолщенной гиалинизированной стенкой и суженным запустевающим просветом.

Иммуногистохимически во всех наблюдениях в зоне ангиоматоза отмечалась выраженная экспрессия *CD*-34 в эндотелиоцитах и неравномерная реакция в клетках стромы, умеренно позитивная реакция с *Bcl*-2 в базальных слоях эпителия и эндотелии, гиперэкспрессия *Ki*-67 в ядрах эндотелиоцитов, в участках фиброматоза – неравномерная реакция во всех клеточных элементах стромы.

Полученные результаты свидетельствуют об активности биологических механизмов поддержки ангиогенеза. Высокий уровень медиаторов воспаления препятствует межклеточному контакту эндотелиоцитов и, на фоне разобщения фаз регенерации и низкой апоптотической активности, обусловливает аномалии развития и полиморфность сосудистых полостей в ПГ, придающих ей схожесть с истинными непластическими образованиями [1].

Заключение. Воспалительная реакция, сосудистая трансформация и фиброз являются взаимно модулирующими звеньями патогенеза пиогенной гранулемы, определяющими полиморфизм ее гистологического строения. Выделенные гистологические варианты ПГ отражают последовательность морфогенетических изменений, соответствующих стадиям созревания грануляционной ткани. Состояние эпителиального покрова и подлежащих тканевых структур выполняет роль взаимных короткодистантных модуляторов дифференцировки клеток и процессов фибрилло- и ангиогенеза.

FEATURES OF ANGIOGENESIS IN PYOGENIC GRANULOMA

O.N. GUSKOVA, O.N. SKARIAKINA

Tver State Medical University of the Ministry of Health of Russia
Sovetskaya Str., 4, Tver, Tver region, 170100, Russia, e-mail: tvergma.patan@yandex.ru

Abstract. Pyogenic granuloma refers to vascular lesions. The etiopathogenesis of angiomatosis in the tissue of the pyogenic granuloma has so far remained the subject of discussions among pathologists in connection with the lack of a single scientifically based theory and the identification of two opposing points of view with respect to the inflammatory and (or) neoplastic nature. **The research purpose** was to study the features of angiogenesis in the tissue of pyogenic granuloma. **Materials and methods.** The authors analyzed 86 specimens of angiomatous lesions. The features of morphological structure and morphometric parameters of vascular and stromal components were evaluated. The markers expression of proliferation, apoptosis and hematopoietic cells was studied. **Results.** The vascular component of pyogenic granuloma is characterized by expressed polymorphism. Owing to the revealed features of capillarization, the authors distinguished three histological variants of pyogenic granuloma which indicate the morphogenetic changes of vascularization during maturation and persistence of granulation tissue. The selected variants have statistically significant morphometric differences. **Conclusion.** The blood vessels of the pyogenic granuloma have morphological features that distinguish it both from granulation tissue and capillary hemangioma, which assures in favor of the dysregenerative theory of angiogenesis.

Key words: pyogenic granuloma, pathogenesis, angiogenesis, proliferation, inflammation.

Литература

1. Гуськова О.Н., Скарякина О.Н. Детекция маркеров ангиогенеза в ткани пиогенной гранулемы // XV международная научно-практическая конференция «Современные концепции научных исследований». М., 2015. Часть 4. С. 28–30.

2. Кемпф В. Дерматопатология. М.: Медицинская литература, 2015. С. 258–261.

3. Козлов В.И. Капилляроскопия в клинической практике. М.: Практическая медицина, 2015. 232 с.

4. Wauters O., Sabatiello M., Nikkels-Tassoudji N., Choffray A., Richert B., Piérard G.E. Pyogenic granuloma // Ann Dermatol Venereol. 2012. № 6.

References

1. Gus'kova ON, Skaryakina ON. Detekciya markerov angiogeneza v tkani piogennoj granulemyYU XV mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferenciya «Sovremennye koncepcii nauchnyh issledovanij» [Detection of markers of angiogenesis in a tissue pyogenic granuloma the world Cup of the international scientific-practical conference "Modern concepts of scientific research»]. Moscow; 2015. Part 4. Russian.

2. Kempf V. Dermatopatologiya [Dermatopathology]. Moscow: Medicinskaya literatura; 2015. Russian.

3. Kozlov VI. Kapillyaroskopiya v klinicheskoj praktike [Capillaroscopy in clinical practice]. Moscow: Prakticheskaya medicina; 2015. Russain.

4. Wauters O, Sabatiello M, Nikkels-Tassoudji N, Choffray A, Richert B, Piérard GE. Pyogenic granuloma. Ann Dermatol Venereol. 2012;6.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 131–136
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 131–136

УДК: 591.466:616-003.725 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16124

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОАМИНОВОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ МИОМЕТРИЯ КРЫС В ПРОЦЕССЕ БЕРЕМЕННОСТИ И ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА

С.В. ДИНДЯЕВ, Ф.А. РОМАШИН, Д.В. КАСАТКИН

ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, Шереметевский просп., д. 8, Иваново, Ивановская обл., 153012, Россия, e-mail: adm@isma.ivanovo.ru

Аннотация. При помощи флуоресцентно-гистохимических и цитоспектрофотометрических методов исследования изучены основные биоаминпозитивные структуры миометрия матки крыс в процессе беременности и послеродового периода: симпатические периваскулярные сплетения, тучные клетки, гладкие миоциты. В указанных структурах микроспектрофлуориметрически дифференцированы катехоламины и серотонин, содержания которых в точках зондирования характеризуются высокой степенью линейной корреляции во все сроки исследования. Динамика количества серотонина и катехоламинов в структурных элементах нервных волокон в течение беременности носит выраженный характер. Наибольшее содержание биоаминов в нервных волокнах наблюдается в 1-4-е сутки беременности. Минимум этих показателей отмечается на 15-16-е сутки. В послеродовом периоде, начиная с 3-х суток, в миометрии регистрируются единичные нервные волокна, с последующим достоверным увеличением содержания в них серотонина и катехоламинов. В тучных клетках и макрофагах дифференцированы гистамин, серотонин и катехоламины, установлена динамика их содержания в разные сроки беременности и послеродового периода. Выявлен спектр корреляционных связей между изменениями оценочных параметров биоаминпозитивных структур. Делается предположение об активном участии биогенных аминов в регуляции морфофункционального состояния миометрия шейки матки в течение беременности и послеродового периода.

Ключевые слова: симпатические нервные волокна, тучные клетки, гладкие миоциты, биогенные амины, матка крыс, миометрий, беременность, послеродовый период.

Актуальность. В процессе беременности и послеродовом периоде матка, как ни один другой орган, претерпевает значительные морфологические и физиологические изменения. Адекватное протекание этих важных процессов обеспечивает многоуровневая система регуляции нейроморфологического профиля, которая регулирует функциональную и регенеративную активность тканевых компонентов органа через влияние на рецепторно-циклазные системы, где в качестве посредников и модуляторов выступают биогенные амины, в том числе гистамин, серотонин, катехоламины [1,2,4,6]. Примером масштабных преобразований в органе может служить миометрий [3,5], в котором во время беременности происходит гипертрофия и гиперплазия гладких миоцитов. Процесс структурной инволюции матки в послеродовом периоде сопровождается возвращением морфологических параметров к исходным величинам. Увеличение объемных показателей миоцитов свидетельствует о функциональной зрелости контрактильной системы, необходимой для обеспечения процесса родов, а в период послеродовой инволюции происходит возрастание доли малых миоцитов и усиление пролиферативного потенциала во всех отделах матки [3]. Данный механизм имеет компенсаторно-приспособительный характер, направленный на поддержание гомеостаза биологических структур, где постоянство содержания биоаминов является неотъемлемым условием [2]. В настоящее время изучены биоаминпозитивные структуры миометрия в течение полового цикла [1]. В то же время отсутствуют данные об их локализации, пространственной кооперации и динамики биоаминовой насыщенности в течение беременности и послеродового периода.

Цель исследования – провести структурно-функциональный анализ биоаминового обеспечения миометрия матки крыс в динамике физиологической беременности и послеродового периода.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена в осенне-зимний период на 108 беспородных самках крыс репродуктивного возраста стандартной массы, распределенных

по разным срокам беременности (1, 4, 6, 7, 9, 10, 15, 16, 20, 21 день) и послеродового периода (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 день). Животные содержались в стандартных условиях вивария. Все манипуляции с экспериментальными животными производили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13.11.1984 г № 724), экспериментальные исследования проводились в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» (1996). Умерщвление проводилось путём дислокации шейных позвонков.

Материал исследования: криостатные нефиксированные срезы шейки матки.

Методы исследования: параформальдегидный метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной для выявления катехоламинов и серотонина в клеточных элементах [1], флуоресцентно-гистохимический метод А. Бъерклунда в модификации В.Н. Швалёва и Н.И. Жучковой для выявления симпатических нервных волокон [8], флуоресцентно-гистохимический метод Кросса-Эвана-Роста с использованием ортофталевого альдегида (фирма «*MERCK-Schuchardt*») для дифференцировки гистамина [9]. Препараты изучались при помощи люминесцентного микроскопа ЛЮМАМ-И3 с фотометрической установкой ФМЭЛ-1А. Микроспектрофлуориметрические эквиваленты содержания гистамина, серотонина и катехоламинов определялись в условных единицах регистрирующего прибора. С целью исключения аутофлуоресценции исследовались препараты, не обработанные реагентом.

Статистический анализ проводился в электронных таблицах *Excel*, достоверность различия показателей оценивали по критерию Стьюдента. Для выявления и анализа сопряжений изменений оценочных параметров использовался метод рангового корреляционного анализа Спирмэна, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. В криостатных срезах матки крыс, обработанных по методу Фалька-Хилларпа, миометрий дифференцируется по характерному темно-зеленому спектру свечения. В его гладких миоцитах микроспектрофлуориметрически регистрируются катехоламины и серотонин. Достоверные колебания уровня данных биоаминов отмечаются как в процессе беременности, так и в послеродовом периоде. Во время беременности максимальные значения установлены на 7-е и 15-е сутки, минимальные – на 9-е. В послеродовом периоде достоверное повышение содержания катехоламинов и серотонина выявлено на 1-е и 7-е сутки, снижение – на 4-5-е сутки (p<0,05) (рис. 1).

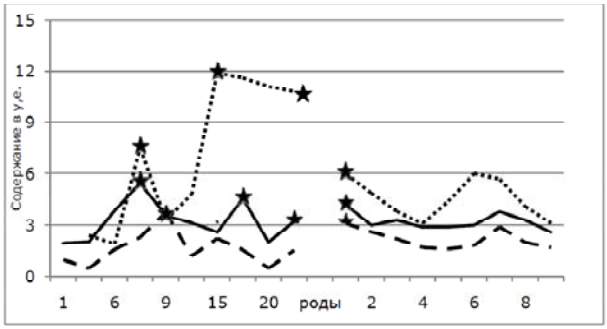


Рис. 1. Динамика содержания биоаминов в гладких миоцитах миометрия шейки матки в течение беременности и послеродового периода. По оси ординат – среднее значение показателя, по оси абсцисс – дни беременности и послеродового периода,
* – достоверность отличий данного оценочного параметра.
Гистамин ·····; катехоламины ——; серотонин - - -

Миоциты, обработанные по методу Кросса-Эвена-Роста, с целью выявления гистамина, обладали интенсивной зеленовато-желтой флуоресценцией. Содержание этого биоамина характеризуется динамикой, аналогичной серотонину и катехоламину (рис. 1).

Тучные клетки миометрия обладают яркой желтовато-зеленой флуоресценцией, в ряде случаев в них различимы отдельные гранулы, содержащие исследуемые амины (рис. 2).

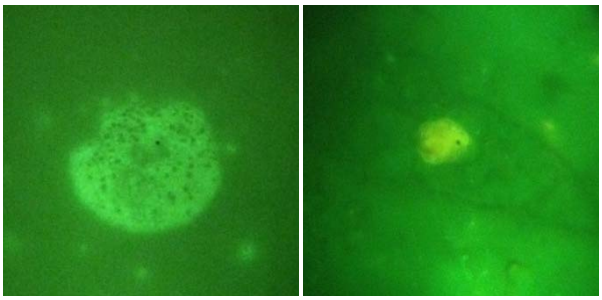


Рис. 2. Тучные клетки миометрия шейки матки. Беременность, 3 сутки. Метод Кросса-Эвана-Роста. Микроскоп ЛЮМАМ ИЗ, об. 90 имм., гомаль 3; ЦФК «*Cannon*»

Динамика изменений уровня биоаминов носит колебательный, сопряженный во времени характер, с максимальным повышением их цифровых показателей в период беременности

на 7-е и 20-е сутки, в послеродовом периоде – на 1-е и 7-е сутки (p<0,05) (рис. 3).

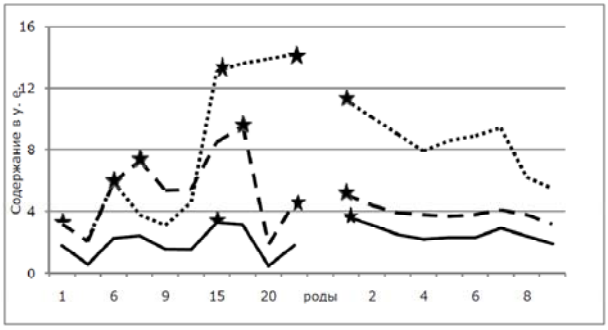


Рис. 3. Динамика содержания биоаминов в тучных клетках миометрия шейки матки в течение беременности и послеродового периода. По оси ординат – среднее значение показателя, по оси абсцисс – дни беременности и послеродового периода, * – достоверность отличий данного оценочного параметра. Гистамин ·····; катехоламины —; серотонин - - -

В течение беременности и послеродового периода наблюдается высокая степень тесноты положительной линейной корреляции между количеством серотонина и катехоламинов по точкам зондирования, как в тучных клетках, так и в гладких миоцитах (r=0,89-0,94). Определена высокая степень хроносопряжения изменений уровня одноименных биоаминов в миоцитах и тучных клетках (R=0,731-0,84). Сравнивая изменения содержания биоаминов в тучных клетках и плотности их пространственного распределения в процессе беременности и в послеродовом периоде, можно отметить достоверно высокую или близкую к ней положительную сопряженность динамики указанных параметров (R=0,71-0,863). Высокий уровень хроносопряжения изменений оценочных параметров биоаминового статуса тучных клеток и миоцитов миометрия указывает на то, что данные структуры влияют на интенсивность обмена серотонина, катехоламинов и гистамина в эффекторных элементах, определяя уровень гомеостаза, как в процессе беременности, так и послеродовом периоде.

Большинство нервных волокон миометрия входит в состав *периваскулярных сплетений* (ПВС), флуоресцирующих изумрудно-зеленым цветом (рис. 4). От ПВС отходят отдельные терминали. По ходу нервных волокон прослеживаются их основные структурные элементы: яркосветящиеся расширения («варикозы») и более тонкие, с меньшей степенью флуоресценции межварикозные участки («межварикозы»). Микроспектрофлуориметрически в нервных волокнах идентифицированы катехоламины и серотонин.

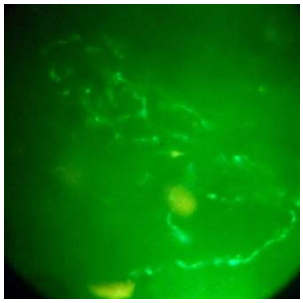


Рис. 4. Периваскулярные нервные сплетения миометрия шейки матки. Беременность, 1-е сутки. Метод Фалька-Хилларпа. Микроскоп ЛЮМАМ ИЗ, об. 90 имм., гомаль 3; ЦФК «*Cannon*»

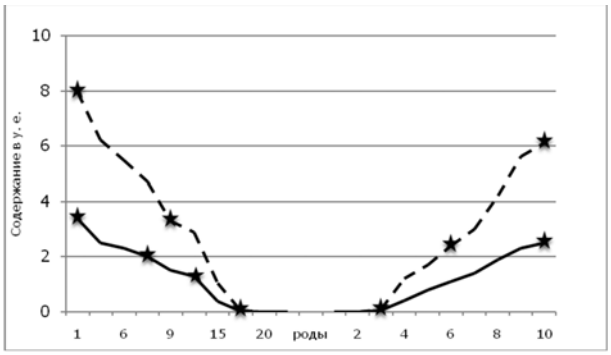


Рис. 5. Динамика содержания серотонина и катехоламинов в варикозных расширениях нервных волокон в составе периваскулярных нервных сплетений миометрия шейки матки в течение беременности и послеродового периода. По оси ординат – среднее значение показателя, по оси абсцисс – дни беременности и послеродового периода,
* – достоверность отличий данного оценочного параметра. Катехоламины —; серотонин - - -

В процессе беременности параметры пространственной архитектоники симпатических нервных волокон матки претерпевают изменения. Плотность пространственного распределения одиночных нервных волокон максимальна с 1-х по 7-е сутки беременности, наименьшие – на 16-е сутки. Параметры пространственной организации ПВС с 4-х суток беременности уменьшаются вплоть до 16-х суток, после чего исчезает видимая флуоресценция нервных волокон. Значительные изменения в течение беременности претерпевает содержание катехоламинов и серотонина в структурных элементах нервных волокон миометрия матки (рис. 5).

Концентрация катехоламинов и серотонина в варикозных расширениях и межварикозных участках нервных волокон ПВС макси-

мальна на 1-4-е сутки беременности, в дальнейшем происходит постепенное снижение их концентрации до 16-х суток, то есть до времени исчезновения флуоресценции нервных волокон. В послеродовом периоде прослеживается обратная динамика; начиная с 3 суток, в миометрии регистрируются единичные нервные волокна, с последующим появлением в них варикозных расширений и достоверным увеличением содержания серотонина и (p<0,05).

Ранговый корреляционный анализ выявляет взаимосвязь изменений параметров пространственной организации симпатического нервного аппарата миометрия (пространственной плотности волокон в составе сплетений и терминалей, удельной плотности ПВС) и содержания в структурных элементах нервных волокон биоаминов. Наиболее высокая такая сопряженность характерна для терминалей (R=0,837-0,914) и варикозных расширений волокон ПВС (R=0,781-0,914).

Данные корреляционного анализа в очередной раз демонстрируют антагонизм катехоламинов и серотонина во влиянии на рецепторно-циклазные клеточные системы, указывая на сбалансированность их метаболизма, определяя функциональную активность рабочих структур во время беременности и в послеродовом периоде. Обращает на себя внимание факт снижения биоаминовой насыщенности, а затем и исчезновения структур нервных волокон к концу беременности и появление, с восстановлением исследуемых параметров до исходных значений, в послеродовом периоде. Мы, с рядом других авторов [5] считаем, что данное явление есть не что иное, как физиологическая десимпатизация, по всей видимости, необходимая для обеспечения покоя органа в последние сроки беременности, и, возможно, для создания местной автономной регуляции в процессе будущей родовой деятельности. Важным является факт достоверного увеличения с 15-х суток беременности плотности пространственного распределения в миометрии тучных клеток. По всей видимости, тучные клетки по мере снижения, а затем и исчезновения флуоресценции симпатических нервных волокон частично берут на себя их роль в обеспечении рабочих структур этой оболочки катехоламинами и серотонином. Наше предположение косвенно подтверждается В.Н. Швалевым, считающего тучные клетки «*участниками состояния нервно-трофических влияний на ткани организма*» [7, С. 689].

Заключение. Сравнение уровней хроносопряжения изменений параметров оценки насыщенности биоаминами исследуемых структур миометрия матки демонстрирует достоверно высокую взаимосвязь колебаний содержания исследуемых биоаминов по дням беременности и послеродового периода. Установлено достоверное снижение, а в дальнейшем и полное исчезновение как биоаминовой насыщенности, так и самих нервных волокон к концу беременности.

Установленная динамика содержания и количественных взаимоотношений исследуемых моноаминов в структурных элементах симпатических нервных волокон матки позволяет предположить наличие сопряженного участия серотонина и катехоламинов в регуляции функциональной активности миометрия матки во время беременности и в послеродовом периоде.

По результатам рангового корреляционного анализа отмечается положительная корреляционная связь изменений уровня исследуемых биоаминов в клеточных элементах миометрия и нервных волокнах в составе периваскулярных сплетений, наблюдаемая в процессах беременности и послеродового восстановления. Сохранение этой закономерности после родов указывает на единство рабочих компонентов в системе внутриорганного биоаминового обеспечения матки.

Данные о динамике в ходе беременности и послеродового периода конкурентных отношений биоаминов, характере взаимодействия более древних и более молодых в филогенетическом отношении интраорганных элементов биоаминового обеспечения рабочих структур подтверждают полученные нами ранее сведения [1] о рабочей кооперации внутриорганных элементов, обеспечивающих оптимальный режим обмена гистамина, серотонина и катехоламинов в соответствии с функциональным состоянием матки.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF BIOAMIC PROVIDING OF RATS' MYOMETRY DURING PREGNANCY AND THE POSTPARTUM PERIOD

S.V. DINDYAEV, F.A. ROMASHIN, D.V. KASATKIN

Ivanovo State Medical Academy the Ministry of health of Russia,
Sheremetyevo Av., 8, Ivanovo, Ivanovo region, 153012, Russia, e-mail: adm@isma.ivanovo.ru

Abstract. Using fluorescence-histochemical and cytospectrophotometric research methods the basic structure of rats' myometrium of the uterus during pregnancy and the postpartum period were studied: sympathetic perivascular plexus, mast cells and smooth myocytes. In these structures, the catecholamines and serotonin were microspectrofluorometrically differentiated, their content at the sensing points were characterized by a high degree of linear correlation at all times of the study. The dynamics of the amount of serotonin and catecholamines in the structural elements of nerve fibers during pregnancy was pronounced. The highest content of bioamines in nerve fibers was observed on the 1-4-th day of pregnancy, the minimum of these indicators being observed on the 15th-16th day. In the postpartum period, starting from 3 days, single nerve fibers were registered in the myometry, followed by a significant increase in the content of serotonin and catecholamines in them. Histamine, serotonin and catecholamines were differentiated in mast cells and macrophages, and the dynamics of their content in different periods of pregnancy and the postpartum period was established. The spectrum revealed correlations between changes in evaluation parameters of bioamin-positive structures. The assumption was made on the active participation of biogenic amines in the regulation of the morphofunctional state of the cervical myometrium during pregnancy and the postpartum period.

Key words: sympathetic nerve fibers, mast cells, smooth myocytes, biogenic amines, rats' uterus, myometrium, pregnancy, postpartum period.

Литература

1. Диндяев С.В., Виноградов С.Ю. Морфофункциональные аспекты обмена биогенных аминов в миометрии матки крыс в процессе полового цикла // Вестник Ивановской медицинской академии. 2007. Т. 12, № 1-2. С. 19–25.

2. Диндяев С.В. Внутри- и внеорганные структуры в системе биоаминового обеспечения матки // Сборник научных трудов SWorld. Материалы международной научно-практической конференции "Современные направления теоретических и прикладных исследований 2012". Одесса: КУПРИЕНКО, 2012. С. 74–84.

3. Долгих О.В., Агафонов Ю.В., Зашихин А.Л. Структурные преобразования миометрия крыс в различные физиологические периоды // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Медико-биологические науки. 2013. № 1. С. 30–35.

References

1. Dindyaev SV, Vinogradov SYU. Morfofunkcional'nye aspekty obmena biogennyh aminov v miometrii matki krys v processe polovogo cikla [Morphological and functional aspects of exchange of biogenic amines in the myometrium of the uterus of rats during the sexual cycle]. Vestnik Ivanovskoj medicinskoj akademii. 2007;12(1-2):19-25. Russian.

2. Dindyaev SV. Vnutri- i vneorgannye struktu-ry v sisteme bioaminovogo obespecheniya matki. Sbornik nauchnyh trudov SWorld. Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii "Sovremennye napravleniya teoreticheskih i prikladnyh issledovanij 2012" [Intra - and unorganize structure in the system boninovo ensure the the uterus. Collection of scientific papers SWorld. Materials of the international scientific-practical conference " Modern directions of theoretical and applied research 2012"]. Odessa: KUPRIENKO; 2012. Russian.

3. Dolgih OV, Agafonov YUV, Zashihin AL. Strukturnye preobrazovaniya miometriya krys v razlichnye fiziologicheskie periody [Structural transformation of the myometrium of rats in different physiological periods]. Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Seriya: Mediko-biologicheskie nauki. 2013;1:30-5. Russian.

4. Лычкова А.Э. Серотонинергическая регуляция эндокринной и мочеполовой систем. М.: Изд-во РАМН, 2014. 467 с.

4. Lychkova AEH. Serotoninergicheskaya regulyaciya ehndokrinnoj i mochepolovoj sistem [Serotonergic regulation of endocrine and urogenital systems]. Moscow: Izd-vo RAMN; 2014. Russian.

5. Ушакова Г.А., Петрич Л.Н. Современные представления о механизмах развития родовой деятельности. Обзор // Мать и Дитя в Кузбассе. 2016. № 2 (65). С. 4–10.

5. Ushakova GA, Petrich LN. Sovremennye predstavleniya o mekhanizmah razvitiya rodovoj deyatel'nosti. Obzor [Modern ideas about the mechan-isms of development of labor. Review]. Mat' i Ditya v Kuzbasse. 2016;2(65):4-10. Russian.

6. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Хрупачев А.Г., Карасева Ю.В., Морозова В.И. Депрессия антистрессовых механизмов как основа развития патологического процесса // Фундаментальные исследования. 2012. № 4 (часть 2). С. 371–375.

6. KHadarcev AA, Morozov VN, KHrupachev AG, Karaseva YUV, Morozova VI. Depressiya antistressovykh mekhanizmov kak osnova razvitiya patologicheskogo processa [Depression of anti-stress mechanisms as a basis of development of pathological process]. Fundamental'nye issledovaniya. 2012;4(chast' 2):371-5. Russian.

7. Швалев В.Н. Развитие морфоклинических представлений о нейротканевых связях: роль тучных клеток в нервной трофике // Казанский медицинский журнал. 2010. Т. 91, № 5. С. 687–689.

7. SHvalev VN. Razvitie morfoklinicheskikh predstavlenij o nejrotkanevykh svyazyakh: rol' tuchnykh kletok v nervnoj trofike [Development of morphological concepts of neurotic connections: the role of mast cells in the nervous trophism]. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2010;91(5):687-9. Russian.

8. Швалев В.Н., Жучкова Н.И. Улучшение гистохимического выявления адренергических нервных элементов в растворе глиоксиловой кислоты при посредстве диметилсульфоксида (ДМСО) // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1987. Т. XCIII, Вып. 10. С. 91–92.

8. SHvalev VN, ZHuchkova NI. Uluchshenie gistokhi-micheskogo vyyavleniya adrenergicheskikh nervnykh ehlementov v rastvore glioksilovoj kisloty pri posredstve dimetilsul'foksida (DMSO) [Improvement of histochemical detection of adrenergic nerve elements in a solution of glyoxyl acid by means of dimethylsulfoxide (DMSO)]. Arkhiv anatomii, gistologii i ehmbriologii. 1987;XCIII(10):91-2. Russian.

9. Cross S.W.D., Ewen S.W.B., Rost F.W.D. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde // Histochem. J. 1971. Vol. 3. P. 471–476.

9. Cross SWD, Ewen SWB, Rost FWD. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde. Histochem. J. 1971;3:471-6.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 137–141
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 137–141

УДК: 611.8 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16125

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕЙРОНОВ ОРЕКСИНЕРГИЧЕСКОГО И ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОГО ЯДЕР СТВОЛА МОЗГА В МЕХАНИЗМЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ, ФОРМИРУЕМОЙ В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

А.В. ДРОБЛЕНКОВ[*,**], А.В. ФЕДОРОВ[*], Р.Н. МАГРАДЗЕ[*], П.Д. ШАБАНОВ[*,**], Л.Г. ПРОШИНА[**]

[*]ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,
ул. Академика Павлова, д. 12, Санкт-Петербург, 197376, Россия
[**]ГОУ ВО «Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого»,
Большая Санкт-Петербургская ул., д. 41, Великий Новгород, Новгородская обл., 173003, Россия,
e-mail: droblenkov_a@mail.ru

Аннотация. Известно, что устойчивый дефицит дофамина, вырабатываемого в дофаминергических ядрах среднего мозга и гиперпродукция олигопептидов семейства орексинов в дорсальной перифорникальной области каудального гипоталамуса, происходящий в результате морфофункционального взаимодействия нейронов соответствующих ядер ствола мозга, предрасполагают к развитию алкогольной зависимости. Целью данной работы явилось выявление малоизученных реактивных изменений нейронов перифорникального орексинергического и паранигральнгого дофаминергического ядер ствола мозга, а также изменения уровня секреции *орексина А* (основной тип орексина) при алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде. Алкогольную зависимость самцов крыс в возрасте 61 сут формировали методом полупринудительной алкоголизации самок, начиная с 1-го дня беременности до 17-го дня постнатального развития. Использованы методики световой микроскопии, количественной морфометрии (подсчет числа неизмененных/малоизмененных и теневидных нейронов в 0,01мм^2 площади этих ядер, вычисление площади тел малоизмененных нейронов) в гистологических срезах, стандартной статистической обработки полученных данных. Установление уровня выработки орексина А производилось на основании визуальной оценки числа гранул протеина в цитоплазме нейронов после их иммуноцитохимического окрашивания в перифорникальном орексинергическом гипоталамическом ядре. В результате работы получены новые морфологические данные, уточняющие патогенетический механизм развития алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде. Уменьшение размеров и гибель значительной части нейронов перифорникального орексинергического ядра, индуцированное этанолом, выражены в меньшей степени, чем в паранигральном дофаминергическом ядре, сочетаются с увеличением выработки *орексина А*. Альтеративные изменения нейронов обоих исследованных ядер сопровождаются компенсаторным влиянием клеток макроглии на жизнеспособные нейроны, возросшим многократно.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, дофаминергическое и орексинергическое ядра, нейроны, реактивные изменения.

Актуальность. До недавнего времени считалось, что главной предпосылкой развития зависимостей, в том числе алкогольной, является устойчивый дефицит дофамина, поддерживающего электрохимическую активность многочисленных проекционных центров *мезокортиколимбической дофаминергической системы* (МДС) [4-6,12]. Дофаминергические ядра среднего мозга являются электрохимическим усилителем нейронов медиальной префронтальной и передней цингулярной коры, гиппокампа, прилежащего ядра – ключевых центров МДС, осуществляющих мотивационно-мнестические / эмоциогенные функции, а через ее обширные анатомические связи, и нейронов всех остальных мозговых формаций [1]. Сегодня стало очевидным, что алкогольную зависимость индуцируют также и олигопептиды, относящиеся к семейству орексинов (*орексины А и В* (*ОХА* и *ОХВ*), гипокретины), грелинов и некоторых других [8]. При этом вопрос, являются ли эти протеины нейротрансмиттерами, остается открытым, однако доказана их роль в регуляции медиаторной передачи сигналов через синапсы МДС. В частности, установлена связь орексинергических волокон с

дофаминергическими нейронами вентральной покрышки среднего мозга и наличие у последних рецепторов к *OXA, OXB* [8]. Однако, реактивные изменения нейронов *перифорникального орексинергического* (ПФ) орексинергического и *паранигральнгого дофаминергического* (ПН) дофаминергического ядер ствола мозга, являющиеся главными источниками орексинов и дофамина в МДС при алкогольной интоксикации мало изучены. Получение этих данных способствовало бы наиболее полному представлению механизмов алкогольной зависимости.

Цель исследования – выявить реактивные изменения нейронов орексинергического ПФ и дофаминергического ПН ядер ствола мозга, а также изменения уровня секреции *OX*А при алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде.

Материалы и методы исследования. У самцов крыс (*n*=5) в возрасте 61с после формирования алкогольной зависимости в перинатальном периоде [3] и у самцов интактных крыс аналогичного возраста (*n*=5) гистологически исследовали орексинергическое и дофаминергическое ядра ствола мозга. Алкогольную диету для половозрелых самок крыс (15%-ный раствор этанола в качестве единственного источника жидкости при свободном доступе к брикетированному сухому корму) применяли, начиная с 1-го дня беременности до 17-го дня постнатального развития (средний возраст окончания грудного вскармливания).

Головной мозг крысят через 3 мин. после декапитации, осуществленной согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 2003 г. № 267), фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в 96% изопропаноле и заливали в парафин. Фронтальные срезы толщиной 3 мкм были выполнены в соответствии со стереотаксическим атласом [9] на уровне *bregma* – 3,6 для изучения каудальной части орексинергического ПФ ядра (рис. а) – области с наибольшим числом орексинергических нейронов [8] и на уровне *bregma* – 4,8 для анализа передней части дофаминергического ПН ядра. В последней количество нейронов и их размеры больше, чем других частях ПН ядра [2]. Срезы окрашивали методом Ниссля, выявляли гранулы *OXA* (с использованием поликлональных кроличьих антител *OXA*, *Clone-cloude corp.*, Китай, для крыс в концентрации 200 *ug/ml*, набора «*VECTASTAIN ABC*», США и хромогена *DAB*). В трех последовательных квадратах площадью 0,01 мм^2 у каждого животного подсчитывали число неизмененных (малоизмененных) нейронов, нейронов-«теней», их долю от общего количества клеток, вычисляли площадь малоизмененных нейронов, количество клеток-сателлитов и глиоцито-нейрональный индекс (как отношение числа клеток сателлитной формы макроглии к числу малоизмененных нейронов).

Морфометрию проводили с помощью программы *Imagescope* (Электронный анализ, Россия). Среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение и стандартную ошибку среднего определяли с помощью компьютерной программы *Excel*. О значимости различий судили по величине *t*-критерия Стьюдента и считали их значимыми при $P<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Тела большинства неизмененных нейронов исследованных ядер у интактных крыс пубертатного периода жизни были насыщены мелкими глыбками субстанции Ниссля, обладали отчетливыми ровными контурами клеточной и ядерной поверхности. Небольшую долю нейронов составили клетки-«тени» (табл. 1 и 2), выявленные также у молодых здоровых крыс-самок и людей [3], содержание которых, по всей вероятности, может быть следствием незавершенности физиологического процесса их программированной гибели после рождения. Фактором, обусловливающим разную степень повреждения нейронов (даже в условиях относительной нормы) может являться влияние избыточного и частого выделения катехоламинов в синаптическую щель [11]. Через ПН ядро, в отличие от дорсального гипоталамического ПФ ядра, проходит ствол катехоламинергического медиального пучка переднего мозга [2,9], волокна которого могут поддерживать электрохимическое перенапряжение нейронов ПНЯ, высокий градиент в этом ядре клеток-«теней» и компенсационного высокого уровня нейроно-глиальных взаимоотношений, убывающий по мере удаления от катехоламинергических ядер [3]. В телах и основаниях отростков многих нейронов ПФ ядра содержались мелкие гранулы ОХА в количестве, обычно, не более 10-15, что соответствует данным электронно-микроскопического исследования этого ядра [10].

У крыс экспериментальной группы малоизмененные нейроны исследованных ядер обнаруживались реже, чем у интактных животных; доля теневидных нейронов, соответстенно, значительно возросла (табл. 1, 2).

Таблица 1

Морфометрические параметры нейронов и нейроно-глиальных взаимоотношений в перифорникальном ядре гипоталамуса на площади 0,01 мм² ($\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$) у крыс на 61 сут.

Воздействие этанола	Количество и доля нейронов			Площадь тел нейронов, мкм² (m = 30)	Число клеток-сателлитов	Глиоцито-нейрональный индекс
	жизнеспособных	клеток-«теней»	всего			
Нет (интактные крысы)	11,4±3,1 93,9±1,5%	0,8±0,2 6,1±1,5%	12,3±0,7 100%	422,0±13,1	1,8±0,3	0,15±0,03
Есть	9,8±2,7 70,5±1,4%*	4,1±1,1 29,5±1,4%*	13,9±0,9	265,6±10,6*	5,1±0,4*	0,51±0,02*

Примечание: * – различия с параметрами клеток у интактных крыс значимы (p<0,05); m – количество измерений

Таблица 2

Морфометрические параметры нейронов и нейроно-глиальных взаимоотношений в паранигральном ядре среднего мозга на площади 0,01 мм² ($\overline{X} \pm S_{\overline{X}}$) у крыс на 61 сут.

Воздействие этанола	Количество и доля нейронов			Площадь тел нейронов, мкм² (m = 30)	Число клеток-сателлитов	Глиоцито-нейрональный индекс
	жизнеспособных	клеток-«теней»	всего			
Нет (интактные крысы)	5,3±0,4 77,8±2,8%	1,5±0,2 22,4±2,8%	6,8±0,5 100%	635,2±25,7	1,7±0,3	0,27±0,04
Есть	4,1±0,3 60,1±2,7%*	2,3±0,2 39,9±2,7%*	6,6±0,4 100%	323,5±19,0*	3,5±0,4*	0,87±0,09*

Примечание: * – различия с параметрами клеток у интактных крыс значимы (p<0,05); m – количество измерений

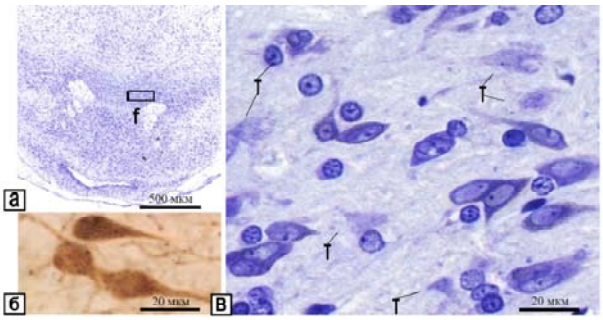


Рис. Изменения нейронов перифорникального ядра каудального гипоталамуса после воздействия этанола в перинатальном периоде у крыс в возрасте 61 сут на площади 0,03 мкм² (ограничена). *Т* – нейроны-«тени», *F* – свод. Окраска методом Ниссля (а,в) и гранул орексина А. Ув.: ×80 (а), ×1000 (б,в)

Многие нейроны-«тени» подвергались фагоцитозу клетками макроглии. Почти двукратное уменьшение площади жизнеспособных дофаминергических нейронов ПН ядра и увеличение доли среди нейронов клеток-«теней» может являться причиной значительного снижения выработки дофамина и обусловить регистрацию высокого индекса предпочтения этанола в аналогичной модели эксперимента [3]. Уменьшение площади нейронов ПФ ядра в эксперименте, по сравнению с параметром у интактных крыс, было значимым (p<0,05), но менее выраженным, чем в ПН ре. В телах нейронов обнаруживались несколько десятков иммунопозитивных гранул *OXA*, в отдельных небольших участках образующие сгущения (рис. б). Выявленное увеличение ции *OXA*, обусловленное лированием алкогольной симости, согласуется с данными об увеличении интенсивности экспрессии *mRNA* к *OXA* и числа экспрессирующих его нейронов в супрафорникальной области при алкогольной интоксикации [7]. В обоих исследованных ядрах у крыс экспериментальной группы многократно возросли параметры нейроно-глиальных взаимоотношений, что является выражением компенсаторного влияния клеток макроглии на поврежденные жизнеспособные нейроны.

Выводы. Морфологическим выражением алкогольной зависимости, формируемой в перинатальном периоде, являются уменьшение размеров и гибель значительной части нейронов дофаминергического и орексинергического ядер. Повреждение нейронов орексинергического ядра, индуцированное этанолом, выражено в меньшей степени, чем в дофаминергическом ядре, и сочетается с увеличением выработки орексина А. Альтеративные изменения нейронов обоих исследованных ядер, индуцированные этанолом, сопровождается компенсаторным влиянием клеток макроглии на жизнеспособные нейроны, возросшим многократно.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 137–141
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 137–141

INTERACTION OF OREXINERGIC AND DOPAMINERGIC BRAIN STEM NUCLEI NEURONS IN THE MECHANISM OF ALCOHOLIC DEPENDENCE, FORMED IN THE PERINATAL PERIOD

A.V. DOBLENKOV[*,**], A.V. FEDOROV[*], R.N. MAGRADZE[*], P.D.SHABANOV[*,**], L.G PROSHINA[**]

[*]Federal State Budget Scientific Foundation "Institute of Experimental Medicine", 12, Akademik Pavlov Str., St. Petersburg, 197376, Russia
[**]State Educational Foundation of Higher Education "Novgorod State University named after Yaroslav the Wise", Bolshaya Sankt-Peterburgskaya Str., 41, Veliky Novgorod, Novgorod region, Russia, 173003, Russia

Abstract. It is known that a stable deficit of dopamine produced in dopaminergic nuclei of the midbrain and hyperproduction of oligopeptides of the orexin family in the dorsal perifornal region of the caudal hypothalamus, resulting from the morpho-functional interaction of the neurons of the corresponding nuclei of the brainstem, predispose to the development of alcohol dependence. The purpose of this work was to to reveal poorly studied reactive changes in the neurons of the perifornical oroxynergic and paranigral dopaminergic nuclei of the brainstem, as well as changes in the level of orexin A secretion (the main type of orexin) with alcohol dependence formed in the perinatal period. The alcohol dependence of male rats at the age of 61 days was formed by the method of semi-forced alcoholization of females, starting from the 1st day of pregnancy to the 17th day of postnatal development. The methods of light microscopy, quantitative morphometry (counting the number of unchanged / low-modified and shadow neurons in 0.01 mm2 of the area of these nuclei, calculating the area of bodies of small-modified neurons) were used in histological sections, standard statistical processing of the obtained data. The determination of the level of orexin A production was based on a visual assessment of the number of protein granules in the cytoplasm of neurons after their immunocytochemical staining in the perixonal oroxynergic hypothalamic nucleus. As a result of the work, new morphological data were obtained, which clarify the pathogenetic mechanism of the development of alcohol dependence, formed in the perinatal period. The decrease in size and death of a significant part of the peri-ornaxial-nucleus-induced neurons induced by ethanol is less pronounced than in the paranigral dopaminergic nucleus, combined with an increase in the production of orexin A. The alterative changes in the neurons of both nuclei are accompanied by a compensatory effect of macrogol cells on viable neurons that have increased manyfold.

Key words: alcohol dependence, dopaminergic and oroxynergic nuclei, neurons, reactive changes.

Литература

1. Голдберг Э. Управляющий мозг. Пер. с англ. Д. Булдакова. М.: Смысл, 2003. 335 с.

2. Дробленков А.В., Федоров А.В., Шабанов П.Д. Структурные особенности дофаминергических ядер вентральной покрышки среднего мозга // Наркология. 2018. Т. 17, №3. С. 41–46.

3. Дробленков А.В., Шабанов П.Д. Дофаминергические механизмы алкогольной зависимости. СПб.: Art-Xpress, 2014.

4. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Волков В.Г., Хадарцева К.А., Карасева Ю.В., Хромушин В.А., Гранатович Н.Н., Гусак Ю.К., Чуксеева Ю.В., Паньшина М.В. Медико-биологические аспекты реабилитационно-восстановительных технологий в акушерстве: монография / Под ред. Хадарцевой К.А.

References

1. Goldberg EH. Upravlyayushchij mozg [Managing the brain]. Per. s angl. D. Buldakova. Moscow: Smysl; 2003. Russian.

2. Droblenkov AV, Fedorov AV, SHabanov PD. Strukturnye osobennosti dofaminergicheskih yader ventral'noj pokryshki srednego mozga [Structural features of dopaminergic nuclei of the ventral tyre of the middle brain]. Narkologiya. 2018;17(3):41-6. Russian.

3. Droblenkov AV, SHabanov PD. Dofaminergicheskie mekhanizmy alkogol'noj zavisimosti [Dopaminergic mechanisms of alcohol dependence]. SPb.: Art-Xpress; 2014. Russian.

4. KHadarcev AA, Morozov VN, Volkov VG, KHadarceva KA, Karaseva YUV, KHromushin VA, Granatovich NN, Gusak YUK, CHukseeva YUV, Pan'shina MV. Mediko-biologicheskie aspekty reabilitacionno-vosstanovitel'nykh tekhnologij v akusherstve: monografiya [Medical and biological as-

Тула: ООО «Тульский полиграфист», 2013. 222 с.

5. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Мещеров Ш.К. Дофамин и подкрепляющие системы мозга. СПб.: Лань, 2002.

6. George S.R., Fan T., Nig G.Y. Low endogenous dopamine function in brain predisposes to high alcohol preference and consumption: reversal by increasing synaptic dopamine // J. Pharmacol. Exp. Therapy. 1995. Vol. 273. P. 373–379.

7. Lawrence A.J., Cowen M.S., Yang H.-J. The orexin system regulates alcohol-seeking in rats // Brit. J. Pharmacol. 2006. Vol. 148. P. 752–759.

8. Luis de Lecea J. Gregor Sutcliffe. Hypocretins. Integrators of physiological functions. New York: Springer Science and Business Media, 2005.

9. Paxinos G., Watson C. The rat brain atlas in stereotaxic coordinates. Fourth Edition. San Diego: Elsevier Acad. Press, 1998.

10. Peyron C., Tighe D.K., van den Pol A.N. Neurons Containing Hypocretin (Orexin) Project to Multiple Neuronal Systems // J. Neurosci. 1998. Vol. 18, № 23. P. 9996–10015.

11. Richards J.G. Ultrastructural effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine-containing neurons in the rat brain. Amsterdam: north-Holland Publ, 1971. P. 151–161.

12. Tissen I.Y., Bychkov E.R., Khokhlov P.P. Interaction between D2 dopamine and OX1R orexin receptors in predator-induced stress // Europ. Neuropharm. 2017. Vol. 27, №12. P. 1012.

pects of rehabilitation and rehabilitation technologies in obstetrics: monograph]. Pod red. KHadarcevoj K.A. Tula: OOO «Tul'skij poligrafist»; 2013. Russian.

5. SHabanov PD, Lebedev AA, Meshcherov SHK. Dofamin i podkreplyayushchie sistemy mozga [Dopamine and the reinforcing systems of the brain]. SPb.: Lan'; 2002. Russian.

6. George SR, Fan T, Nig GY. Low endogenous dopamine function in brain predisposes to high alcohol preference and consumption: reversal by increasing synaptic dopamine. J. Pharmacol. Exp. Therapy. 1995;273:373-9.

7. Lawrence AJ, Cowen MS, Yang H-J. The orexin system regulates alcohol-seeking in rats. Brit. J. Pharmacol. 2006;148:752-9.

8. Luis de Lecea J. Gregor Sutcliffe. Hypocretins. Integrators of physiological functions. New York: Springer Science and Business Media; 2005.

9. Paxinos G, Watson C. The rat brain atlas in stereotaxic coordinates. Fourth Edition. San Diego: Elsevier Acad. Press; 1998.

10. Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN. Neurons Containing Hypocretin (Orexin) Project to Multiple Neuronal Systems. J. Neurosci. 1998;18(23):9996-10015.

11. Richards JG. Ultrastructural effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine-containing neurons in the rat brain. Amsterdam: north-Holland Publ; 1971.

12. Tissen IY, Bychkov ER, Khokhlov PP. Interaction between D2 dopamine and OX1R orexin receptors in predator-induced stress. Europ. Neuropharm. 2017;27(12):1012.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 142–147
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 142–147

УДК: 599.323.4-114.73-114.76:615.357 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16140

ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ И ТЕТРАЙОДТИРОНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАТЕХОЛАМИНСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУР ТИМУСА

И.М. ДЬЯЧКОВА, О.В. ПАВЛОВА, В.Е. СЕРГЕЕВА

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Московский просп., д. 15, Чебоксары, Чувашская Респ., 428010, Россия, e-mail: iraida-djachkova@rambler.ru

Аннотация. Изучение структурных преобразований и катехоламинсодержащих структур тимуса на введение тетрайодтиронина и кальция с питьевой водой представляют научный интерес.

С помощью люминесцентно-гистохимического метода изучены катехоламинсодержащие структуры тимуса при поступлении соли кальция и введении тетрайодтиронина. Цитоспектрофлуориметрией определены количественные содержания катехоламинов с помощью люминесцентного микроскопа ЛЮМАМ-4 с дополнительной насадкой ФМЭЛ-1А. В структурах тимуса животных при поступлении кальция с питьевой водой отмечено достоверное увеличение люминесценции катехоламинов в мозговом веществе долек тимуса и тучных клетках, а в макрофагах на границе коркового и мозгового вещества и коркового вещества долек тимуса, наоборот, – их снижение. Введение тетрайодтиронина в течение 7 суток эксперимента приводит к повышению интенсивности люминесценции катехоламинов в люминесцирующих гранулярных клетках тимуса крыс, в остальных исследуемых структурах тимуса изменяется в противоположном направлении. Через 14 и 28 суток воздействия терайодтиронином во всех исследуемых структурах тимуса определены однонаправленные изменения в виде снижения интенсивности люминесценции катехоламинов. Эти различия наиболее часто выражены в лимфоцитах мозгового вещества долек тимуса.

Ключевые слова: тимус, катехоламины, кальций, тетрайодтиронин, люминесцирующие гранулосодержащие клетки.

Актуальность. В создании определенного биоаминного обеспечения тимуса участвуют *люминесцирующие гранулярные клетки* (ЛГК) долек и тучные клетки [3]. Важную роль выполняют антигенпредставляющие клетки как посредники иммунной и нейроэндокринной систем в тимусе. Известно, что морфофункциональное состояние тимуса зависит от активности симпатоадреналовой системы. Макрофаги и дендритные клетки, секретируя иммунорегуляторные факторы, в том числе и биогенные амины, изменяют количество и соотношение нейромедиаторов в микроокружении тимоцитов [12]. Катехоламины активно влияют на селекцию тимоцитов, участвуют в процессах пролиферации и дифференцировки, регуляции созревания *Т*-клеток [11,13].

Кальций принимает участие во многих жизненно важных процессах [4], также участвует в высвобождении катехоламинов из надпочечников и выделении нейромедиаторов пресинаптическими нервными окончаниями [12].

Тиреоидные гормоны оказывают в организме многообразные эффекты. Это объясняется тем, что в ядрах клеток практически всех органов и тканей есть рецепторы к ним. Тиреоидные гормоны способны усиливать чувствительность адренорецепторов к катехоламинам и увеличивать их количество на поверхности клеток [6]. В связи с вышеизложенным люминесцентно-гистохимические исследования катехоламинсодержащих структур тимуса при введении тетрайодтиронина и при поступлении кальция с питьевой водой представляют научный интерес.

Цель исследования – изучение структурных преобразований и катехоламинсодержащих структур тимуса на введение тетрайодтиронина и кальция с питьевой водой.

Материалы и методы исследования. В работе использовали половозрелых крыс-самцов, содержавшихся в условиях лабораторного вивария при естественном освещении и сбалансированном рационе питания. Все эксперименты проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» («Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267») и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целях».

Животные, получавшие раствор хлорида

кальция с питьевой водой, разделены на 2 группы: интактные (контрольные) – 15 особей получали питьевую воду «Сестрица-природная», соответствующую требованиям ГОСТ Р 52109-2003, СанПиН 2.1.4.1116-02; вторая – 15 особей, которые употребляли в течение 60 дней питьевую воду «Сестрица-природная», соответствующую требованиям ГОСТ Р 52109-2003, СанПиН 2.1.4.1116-02 с добавлением хлорида кальция в концентрации 235 мг/л в пересчете на кальций.

В эксперименте с тетрайодтиронином животные разделены на следующие группы: контрольная – 15 особей – внутримышечно им ежедневно вводили 1 мл физраствора (Россия, «Гематек») в течение 7, 14, и 28 суток; опытная группа – 15 особей – им ежедневно внутримышечно вводили тетрайодтиронин (*L*-тироксин, Германия, «Берлин Хеми») по 1 мл, утром (7.30 – 8.30) в течение 7, 14, и 28 суток.

Животные были выведены из эксперимента во второй половине дня (14:00 – 16:00) путем декапитации. Для гистологического исследования забирали тимус. С целью выявления катехоламинов орган замораживали, в последующем готовили криостатные срезы и ставили люминесцентно-гистохимическую реакцию Фалька-Хиларпа в модификации Е.М. Крохиной [8].

Срезы тимуса инкубировали в термостате в течение 60 минут при температуре 80°C в парах формальдегида («Лабтех», Россия). Метод основан на реакции конденсации катехоламинов формальдегидом с образованием 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов, которые в результате дегидрирования превращаются в 3,4-дигидроизохинолины. Кетотаутомеры продуктов реакции образуют люминесцирующий комплекс, дающий изумрудно-зеленую флуоресценцию при облучении видимым сине-фиолетовым светом.

Цитоспектрофлуориметрией определяли количественное содержание катехоламинов с помощью люминесцентного микроскопа ЛЮМАМ-4 с дополнительной насадкой ФМЭЛ-1А. Для выявления интенсивности свечения катехоламинов использовали сетофильтр № 6 (длина волны 480 нм). Показания снимались с табло усилителя в условных единицах (у.е.). Полученные данные обрабатывались статистически с использованием табличного редактора *Excel* из пакета прикладных программ *Microsoft Office* 2010. Оценку достоверности различий средних величин проводили с применением критерия Манна-Уитни. Вычисляли: M – среднеарифметическая величина, m – стандартная ошибка среднего значения, p – достоверность различия показателей подопытных групп по сравнению с контрольной группой: * – $p \leqslant 0{,}05$; ** – $p \leqslant 0{,}01$; *** – $p \leqslant 0{,}001$.

Результаты и их обсуждение. Люминесцентно-гистохимическое исследование тимуса лабораторных крыс методом Фалька-Хиларпа в модификации Е. М. Крохиной показало хорошо выраженное дольчатое строение органа. Во внутренней части коркового слоя долек тимуса опытных животных при поступлении кальция с питьевой водой, в области коркового и мозгового вещества долек тимуса в один или два ряда располагаются ЛГК, окружая непрерывным слоем мозговое вещество в виде кольца или ободка. Эти клетки более крупные и лежат компактно, сильно варьируют по форме и размерам. В их цитоплазме содержатся крупные гранулы с беловато-желтой люминесценцией. В клетках четко прослеживаются межгранулярные пространства. Ядра люминесцирующих гранулосодержащих клеток не люминесцируют [1].

Среди биоаминсодержащих клеток дольки тимуса достаточно часто встречаются *тучные клетки* (ТК). Изумрудно-зеленые нервные волокна определяются по ходу кровеносных сосудов. Иногда одиночные нервные волокна проходят в паренхиму железы и вплотную подходят к ЛГК коркового вещества долек.

Характер распределения катехоламинов в структурах тимуса контрольных животных был следующим: наибольшая интенсивность люминесценции была обнаружена в макрофагах на границе коркового и мозгового вещества и коркового вещества долек тимуса на уровне 9,62±0,71 у.е. и 8,72±0,17 у.е. соответственно, самые низкие уровни катехоламинов регистрировались в паренхиме мозгового вещества (3,71±0,29 у.е.) долек тимуса и в тучных клетках (4,50±0,18 у.е.) (табл. 1).

Поступающий с питьевой водой кальций способствовал, в сравнении с контрольными животными, увеличению катехоламинов в лимфоцитах мозгового вещества и в тучных клетках (4,59±0,12 у.е. и 5,69±0,19 у.е. ($p<0{,}05$) соответственно). В ЛГК на границе коркового и мозгового вещества и коркового вещества была выявлена тенденция к снижению исследуемого биоамина.

Таблица 1

Интенсивность люминесценции катехоламинов в структурах тимуса экспериментальных животных (*M*±*m*, у.е.)

Структуры тимуса		Группы животных	
		контрольная	с кальцием
Макрофаги	на границе коркового и мозгового вещества	9,62±0,71	8,96±1,96
	коркового вещества	8,72±0,17	8,06±0,17*
	Тучные клетки	4,50±0,18	5,69±0,19*
Лимфоциты	коркового вещества	5,46±0,29	5,03±0,13
	мозгового вещества	3,71±0,29	4,59±0,12*

Примечание: * – различия достоверны с контрольной группой (p<0,05)

Таблица 2

Интенсивность люминесценции катехоламинов в структурах тимуса лабораторных крыс контрольной и опытной групп, (*M*±*m*, у.е.)

Структуры тимуса	Сроки воздействия					
	7 суток		14 суток		28 суток	
	Группы экспериментальных животных					
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
Тучные клетки	0,3±0,06	0,089±0,02*	0,37±0,01	0,29±0,13*	0,41±0,01	0,36±0,09*
Микроокружение тучных клеток	0,23±0,04	0,046±0,01*	0,22±0,02	0,16±0,05*	0,28±0,01	0,27±0,11*
ЛГК коркового вещества	0,07±0,01	0,16±0,02*	0,52±0,01	0,32±0,23*	0,43±0,02	0,31±0,18*
ЛГК между корковым и мозговым веществом	0,16±0,05	0,27±0,06*	0,55±0,16	0,43±0,01*	0,53±0,09	0,44±0,09*
Лимфоциты мозгового вещества	0,18±0,01	0,05±0,02*	0,25±0,01	0,15±0,03*	0,2±0,07	0,09±0,02*
Лимфоциты коркового вещества	0,14±0,01	0,09±0,02*	0,27±0,01	0,16±0,05*	0,29±0,06	0,17±0,14*

Примечание: * – различия достоверны с контрольной группой (p<0,05)

Сопоставляя результаты исследования содержания катехоламинов в структурах тимуса опытной группы с контрольными животными, можно отметить несколько отличительных особенностей. Так, у животных, употреблявших с питьевой водой кальций, в тучных клетках и лимфоцитах мозгового вещества тимуса интенсивность люминесценции катехоламинов увеличилась, а в макрофагах коркового вещества – снизилась. Доказано участие катехоламинов в иммунных реакциях, связанных с усилением пролиферации лимфоцитов [11] и выходом части клеток на периферию [10]. Также известно, что катехоламины усиливают фагоцитарную активность макрофагов [12]. Выявленные закономерности распределения катехоламинов между структурами тимуса при поступлении в организм соли кальция с питьевой водой, возможно, направлены на коррегирование иммунитета [5].

Люминесцентно-гистохимический метод исследования микроанатомического строения и клеточного состава тимуса животных, получавших тетрайодтиронин, позволил выявить классическое строение тимуса. В срезах тимуса крыс опытной группы, по сравнении с контрольной, в поле зрения визуально отмечено уменьшение числа люминесцирующих гранулярных клеток.

При введении препарата тетрайодтиронина в течение 7 суток обнаружены следующие изменения: интенсивность люминесценции катехоламинов в люминесцирующих гранулярных клетках тимуса крыс опытной группы выше, чем в контрольной (в 2,3 раза в ЛГК коркового вещества, в 1,7 раза в ЛГК между корковым и мозговым веществом долек), обеспеченность нейромедиаторными биоаминами в остальных исследуемых структурах тимуса изменяется в противоположном направлении (в опытной группе животных ниже, чем в контрольной в 1,5 раза в лимфоцитах коркового вещества, в 3,6 раза в лимфоцитах мозгового вещества, 3,4 раза в тучных клетках, в 5 раз в микроокружении тучных клеток) (табл. 2).

Через 14 и 28 суток экспериментального воздействия во всех исследуемых структурах тимуса отмечаются однонаправленные изменения в виде снижения интенсивности люминесценции катехоламинов в опытной группе по сравнению с контрольной. Наиболее выражены эти различия в лимфоцитах мозгового вещества дольки тимуса в течение 28 суток проведения исследования – интенсивность люминесценции катехоламинов в опытной группе крыс в 2,2 раза ниже, чем в контрольной. Известно, что тиреоидные гормоны способны усиливать чувствительность адренорецепторов к катехо-

ламинам и повышать плотность некоторых адренорецепторов на поверхности клеток [6].

Тиреоидное и адреналовое звенья взаимосвязаны и имеют общие центральные механизмы регуляции. Функциями этих систем управляют тропные гормоны аденогипофиза. Тиролиберин гипоталамуса стимулирует не только тиреотропный, но также и адренокортикотропный гормоны гипофиза [7]. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы обладают способностью к стабилизации биомембран, оказывают влияние на клеточный иммунитет [9].

Катехоламины подавляют ТТГ-зависимую секрецию тиреоидных гормонов, адреналин способен ингибировать монодейодирование тироксина в щитовидной железе. С другой стороны, обнаружено, что содержание катехоловых аминов в гипоталамусе зависит от уровня гормонов щитовидной железы. В частности, при гипертиреозе снижается концентрация дофамина в нём [2].

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что как поступление кальция с питьевой водой, так и введение тетрайодтиронина вызывают характерные изменения нейромедиаторных биогенных аминов в тимусе.

Выводы:

1. В клеточных структурах тимуса животных, употреблявших соединения кальция, произошли достоверные изменения люминесценции катехоламинов, по сравнению с контрольными животными, которые выражались в увеличении люминесценции катехоламинов в тучных клетках и в тимоцитах мозгового вещества (от 4,59±0,12 у. е. до 5,69±0,19 у. е.; $p<0,05$).

2. Введение тетрайодтиронина лабораторным крысам в течение 7 суток приводит к достоверному повышению интенсивности люминесценции катехоламинов в ЛГК, расположенных между корковым и мозговым веществом и в корковом веществе. Введение же данного гормона в течение 14 и 28 суток – к снижению интенсивности люминесценции исследуемого нейромедиаторного биогенного амина во всех катехоламинсодержащих структурах тимуса.

CALCIUM AND TETRAIODOTHYRONINE EFFECTS ON MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THYMUS CATECHOLAMINE-CONTAINING STRUCTURES

I.M. DJACHKOVA, O.V. PAVLOVA, V.E. SERGEEVA

Chuvash State I.N. Ulyanov University, Moskovsky Av., 15, Cheboksary, Chuvash Republic, 428010, Russia, e-mail: iraida-djachkova@rambler.ru

Abstract. It is scientific interest to investigate structural variations and thymic catecholamine-containing structures when entering tetra-iodothyronine and calcium-containing water. Thymic catecholamine-containing structures were studied by means of luminescent-histochemical method when calcium salt and tetra-iodothyronine were introduced to rats. Quantitative content of catecholamines was determined by cytospectrofluorimetry by means luminescent microscope LUMAM-4 with conductor FMEL 1A. Significant increase of catecholamines luminescence was in the medulla of the thymic lobules and mast cells and decrease of catecholamines luminescence was in macrofages at the border of the cortex and medulla and the cortex of the thymic lobules, when animals drinked calcium-containing water. Catecholamines luminescence increased in luminescent granule cells of rats thymus, and it changed contrariwise in other investigated structures of thymus within 7 days of tetraiodothyronine injection. Catecholamines luminescence intensity decreased in all investigated structures of thymus within 14 and 28 days of tetra-iodothyronin injection,and this disparity was most apparent in lymphocytes of the thymic lobule medulla.

Key words: thymus gland, catecholamines, calcium, tetra-iodothyronine, luminescent granule-containing cells.

Литература

1. Артемьева И.Л., Сергеева В.Е. Морфофункциональная характеристика структур тимуса при экспериментальной тестэктомии. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2012. 96 с.

References

1. Artem'eva IL, Sergeeva VE. Morfofunkcional'naya harakteristika struktur timusa pri ehksperimental'noj testehktomii [Morphofunctional characteristic structures of the thymus in the experimental mastectomie]. CHeboksary: Izd-vo CHuvash. un-ta; 2012.

2. Бизунок Т.А., Бизунок Н.А. Роль нейромедиаторов в регуляции функции щитовидной железы // Медицинский журнал. 2006. № 2 (16). С. 10–12.

3. Гордова В.С., Ялалетдинова Л.Р., Ястребова С.А., Сергеева В.Е. Исследование катехоламинсодержащих структур тимуса мышей при введении хронического гонадотропина // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 4.

4. Дьячкова И.М., Сергеева В.Е. Морфофункциональная характеристика SP-позитивных структур тимуса лабораторных крыс при получении кальция с водой // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 10. С. 241–245.

5. Корнева Е.А., Новикова Н.С., Шаинидзе К.З., Перекрест С.В. Взаимодействие нервной и иммунной систем. Молекулярно-клеточные аспекты. Санкт-Петербург: Наука, 2012. 173 с.

6. Кубасов Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды // Вестник РАМН. 2014. № 9-10. С. 102–106.

7. Кубасов Р.В., Барачевский Ю.Е., Лупачев В.В. Функциональные изменения гипофизарно-гонадного и тиреоидного эндокринных звеньев в ответ на стрессовые факторы // Фундаментальные исследования. 2014. № 10. С. 1010–1013.

8. Лузикова Е.М., Гордова В.С., Прохорова А.И., Тимофеев А.С., Смородченко А.Д., Сергеева В.Е. Сочетанное использование метода Фалька-Хилларпа и авидина с флуоресцирующими метками при изучении строения тимуса // Морфология. 2017. Т. 151, № 3. С. 85.

9. Мелентьев А.С. Морфофункциональные особенности и пропедевтические основы диагностики заболеваний щитовидной железы в различном возрасте. Методические рекомендации / под ред. А.С. Мелентьева и Г.Ю. Голубевой. Москва: ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава РФ, 2013. С. 8 – 9.

Russian.

2. Bizunok TA, Bizunok NA. Rol' nejromediatorov v regulyacii funkcii shchitovidnoj zhelezy [The role of neurotransmitters in the regulation of thyroid function]. Medicinskij zhurnal. 2006;2 (16):10-2. Russian.

3. Gordova VS, YAlaletdinova LR, YAstrebova SA, Sergeeva VE. Issledovanie katekholaminsoderzhashchih struktur timusa myshej pri vvedenii hronicheskogo gonadotropina [Study of catecholamine-containing structures of thymus mice with the introduction of chorionic gonadotropin]. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2017;4. Russian.

4. D'yachkova IM, Sergeeva VE. Morfofunkcional'naya harakteristika SP-pozitivnyh struktur timusa laboratornyh krys pri poluchenii kal'ciya s vodoj [Morphofunctional characteristic of SP-positive thymus structures of laboratory rats in the preparation of calcium with water]. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. 2017;10:241-5. Russian.

5. Korneva EA, Novikova NS, SHainidze KZ, Perekrest SV. Vzaimodejstvie nervnoj i immunnoj sistem. Molekulyarno-kletochnye aspekty [The interaction of the nervous and immune systems. Molecular-cellular aspects]. Sankt-Peterburg: Nauka; 2012. Russian.

6. Kubasov RV. Gormonal'nye izmeneniya v otvet na ehkstremal'nye faktory vneshnej sredy [Hormonal changes in response to extreme environmental factors]. Vestnik RAMN. 2014;9-10:102-6. Russian.

7. Kubasov RV, Barachevskij YUE, Lupachev VV. Funkcional'nye izmeneniya gipofizarno-gonadnogo i tireoidnogo ehndokrinnyh zven'ev v otvet na stressovye faktory [Functional changes in pituitary-gonadal and thyroid endocrine units in response to stress factors]. Fundamental'nye is-sledovaniya. 2014;10:1010-3. Russian.

8. Luzikova EM, Gordova VS, Prohorova AI, Timofeev AS, Smorodchenko AD, Sergeeva VE. Sochetannoe ispol'zovanie metoda Fal'ka-Hillarpa i avidina s fluoresciruyushchimi metkami pri izuchenii stroeniya timusa [Combined use of Falk-Hillarp and avidin with fluorescent marks in the study of the structure of the thymus]. Morfologiya. 2017;151(3):85. Russian.

9. Melent'ev AS. Morfofunkcional'nye osobennosti i propedevticheskie osnovy diagnostiki zabolevanij shchitovidnoj zhelezy v razlichnom vozraste. Metodicheskie rekomendacii. Pod red. A.S. Melent'eva i G.YU. Golubevoj [Morphofunctional features and propaedeutical basis of diagnosis of thyroid diseases at different ages. Methodical recommendation. Under the editorship of A. S. and G. Melentyeva Yulia Golu-

10. Старская И.С., Кудрявцев И.В., Полевщиков А.В. Морфологический анализ и динамика гидрокортизон-индуцированной атрофии тимуса // Мед. акад. журнал. 2012. Т. 12, № 3. С. 94–96.

11. Торховская Т.И., Белова О.В., Зимина И.В., Крючкова А.В., Москвина С.Н., Быстрова О.В., Арион В.Я., Сергиенко В.И. Нейропептиды, цитокины и тимические пептиды как эффекторы взаимодействия тимуса и нейроэндокринной системы // Вестник РАМН. 2015. Т. 70, № 6. С. 727–731.

12. Kin W.N., Sanders V.M. It takes nerve to tell T and B cells what to do // Journal of Leukocyte Biology. 2006. Vol. 79. P. 1093–1104.

13. Lee S., Zhang J. Heterogeneity of macrophages in injured trigeminal nerves: Cytokine/chemokine expressing vs. phagocytic macrophages // Brain Behav Immun. 2012. Vol. 26, № 6. P. 891–903.

beva]. Moscow: GBOU VPO RNIMU im. N.I.Pirogova Minzdrava RF; 2013. Russian.

10. Starskaya IS, Kudryavcev IV, Polevshchikov AV. Morfologicheskij analiz i dinamika gidrokortizon-inducirovannoj atrofii timusa [Morphological analysis and dynamics of the hydrocortisone-induced atrophy of the thymus]. Med. akad. zhurnal. 2012;12(3):94-6. Russian.

11. Torhovskaya TI, Belova OV, Zimina IV, Kryuchkova AV, Moskvina SN, Bystrova OV, Arion VYA, Sergienko VI. Nejropeptidy, citokiny i timicheskie peptidy kak ehffektory vzaimodejstviya timusa i nejroehndokrinnoj sistemy [Neuropeptides, cytokines and thymic peptides as effectors of interaction of the thymus and neuroendocrine system]. Vestnik RAMN. 2015;70(6):727-31. Russian.

12. Kin WN, Sanders VM. It takes nerve to tell T and B cells what to do. Journal of Leukocyte Biology. 2006;79:1093-104.

13. Lee S, Zhang J. Heterogeneity of macrophages in injured trigeminal nerves: Cytokine/chemokine expressing vs. phagocytic macrophages. Brain Behav Immun. 2012;26(6):891-903.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 148–152

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 148–152

УДК: 611.018:612.014:57.045 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16142

ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЛЕГКИХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Л.М. ЕРОФЕЕВА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский Институт морфологии человека" (ФГБНУ НИИМЧ), ул. Цюрупы, д. 3, Москва, 117418, Россия, тел.: 8-499-120-80-65, e-mail: morfolhum@mail.ru

Аннотация. Дана характеристика популяции тучных клеток в легких белых крыс самцов Вистар, после длительного воздействия антиортостатической гипокинезии в однократном и повторном режимах. Антиортостатическую гипокинезию моделировали путем фиксации крыс за звост вниз головой так, что задние лапки на 1 см. были выше пола. Для характеристики функционального состояния популяции тучных клеток подсчитывали цитограмму, определяли индекс дегрануляции и средний гистохимический индекс. Показано, что при однократном 30-ти суточном воздействии антиортостатической гипокинезии численность популяции тучных клеток в легких резко возрастает, что, по-видимому, характеризует значительное напряжение регуляторных механизмов в экстремальных для органа условиях. Повторное 14-ти суточное воздействие антиортостатической гипокинезии в меньшей степени вызывало реакцию тучных клеток, однако направленность изменений сохранялась. Анализ цитограмм показал, что у контрольных животных преобладал способ быстрой дегрануляции, о чем свидетельствует преобладание в цитограмме очень светлых и светлых клеток, а также клеток сильно и умеренно дегранулированных, а у опытных животных выделение секрета тучных клеток осуществлялось преимущественно способом постепенной дегрануляции, т.к. значительную часть популяции представляют темные и очень темные клетки и клетки с умеренной и слабой степенью дегрануляции. Что в наиболее полной мере отвечало потребностям органа.

Ключевые слова: тучная клетка, гипокинезия, микрогравитация, интерстиций легких, плевра

Введение. *Тучные клетки* (ТК) – уникальный клеточный элемент рыхлой волокнистой соединительной ткани. Они располагаются преимущественно по ходу кровеносных и лимфатических сосудов, нервных стволов, вблизи желез, а также в дерме кожи и в собственной пластинке слизистой оболочки, которые подвергаются антигенным воздействиям. В среднем в рыхлой соединительной ткани их относительное содержание составляет 10% от общего числа клеток. ТК обеспечивают поддержание гомеостаза, участвуют в защитных и аллергических реакциях, адаптации организма к действию вредных факторов окружающей среды антропогенного происхождения [6,8]. Проявлением регуляторной функции ТК служит нарастание их количества в строме различных органов, функциональная активность которых повышается, вблизи и внутри очагов хронического воспаления, в опухолях и по периферии заживающих ран [5,7,9]. При стрессе изменение тканевого метаболизма сочетается с изменением тонуса вегетативной нервной системы. Обратная связь между компонентами тканевого метаболизма и отделами вегетативной нервной системы во многом опосредуется ТК. Они располагаются по ходу кровеносных сосудов и контактируют с нервными окончаниями. Биологически активные вещества (гепарин, гистамин, простагландины, серотонин) и цитокины, выделяемые тучными клетками модулируют сигналы нервных окончаний и тонус кровеносных сосудов. В связи с этим изменение цитофизиологического состояния ТК является одним из проявлений стресс-реакции. По данным литературы ТК отвечают на стрессорные воздействия дегрануляцией и изменением численности популяции. В связи с этим изучение морфологии ТК при различных стрессовых состояниях является актуальным.

Цель исследования – изучение гистофизиологии ТК в легких крыс при моделировании эффектов микрогравитации.

Микрогравитация, или невесомость – состояние, при котором сила взаимодействия тела с опорой (вес тела), возникающая в связи с гравитационным притяжением, отсутствует. Состояние невесомости, в котором пребывают космонавты во время космического полета, характеризуется многочисленными эффектами

в организме. В космической медицине для моделирования некоторых эффектов микрогравитации применяют *антиортостатическую гипокинезию* (АНОГ) – ограничение двигательной активности в антиортостатическом положении (фиксация вниз головой под углом 15°). Пребывание животных в антиортостатическом положении при вывешивании за хвост моделирует два эффекта невесомости, возникающих у человека в космическом полете: отсутствие опорной нагрузки на нижние конечности, вызывающее снижение поступления афферентных экстеро- и проприоцептивных сигналов в головной мозг, и перераспределение жидких сред организма к верхней части тела, приводящее к затруднению оттока крови.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе Государственного научного центра РФ – «Институт медико-биологических проблем РАН». Животные: половозрелые белые крысы самцы Вистар, 40 особей. Для создания эффектов микрогравитации использовали модель длительного (30 суток) вывешивания животных в однократном (1-ая группа) и повторном (2-ая группа) режимах. Путём мягкой фиксации за хвост животных фиксировали на подвижную основу так, что задние лапки на 1 см. были выше пола. Животных распределили на группы по 10 особей в каждой. Крысы 1-ой опытной группы подвергались 30-ти суточному воздействию АНОГ путем вывешивания. Крыс 2-ой опытной группы после 30 дней АНОГ содержали в условиях вивария 30 суток, а затем повторно вывешивали на 14 суток. Животных контрольных групп содержали в условиях вивария в течение всего эксперимента и выводили из эксперимента одновременно с опытными крысами. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Страсбург, 18 марта 1986 г.) и с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», регламентированных Приказом № 755 Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1987 г.

Материалом для исследования послужили лёгкие. Материал фиксировали 10% нейтральным формалином. Парафиновые срезы толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином-эозином и толуидиновым синим. На гистологических срезах, окрашенных толуидиновым синим, подсчитывали выявляемые тучные клетки, т.е. тучные клетки с метахроматическими гранулами, на условной единице площади 1 мм^2. Для характеристики функционального состояния популяции тучных клеток подсчитывали цитограмму, в которой тучные клетки подразделяли по убыванию количества гранул на очень темные, темные, светлые и очень светлые и по степени дегрануляции на слабо, умеренно и сильно дегранулирующие клетки [2]. Определяли индекс дегрануляции (процентное соотношение различных видов дегрануляции) и средний гистохимический индекс, который отражает насыщенность тучных клеток секреторным материалом [3]. Вариационно-статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы *STATISTICA* 6.0. Для каждой выборки рассчитывали *среднюю арифметическую* (*M*) и *стандартную ошибку среднего* (*m*).

Результаты и их обсуждение. Исследования показали неравномерное распределение ТК в лёгких. Вдоль кровеносных сосудов, вокруг бронхов, бронхиол и в плевре они образуют небольшие скопления или цепочки, в межальвеолярных перегородках встречаются единично расположенные клетки. Количество ТК в интерстиции в 1,5 раза превышает их число в плевре. Был проведен анализ основных характеристик популяции ТК, результаты которого представлены на диаграммах (рис.1). С целью выявления региональных особенностей была проведена раздельная оценка состояния популяции ТК в плевре и в интерстиции в целом.

Анализ цитограмм ТК показал, что у контрольных животных встречаются в основном очень светлые, светлые и темные клетки (рис. 1А). Очень темные ТК не выявляются. При этом в интерстиции преобладают очень светлые клетки, а в плевре светлые, что вполне логично с функциональной точки зрения. Показатель степени дегрануляции ТК у контрольных животных (рис. 2А,Б) свидетельствует о том, что в интерстиции слабые, умеренные и сильные дегрануляционные процессы выражены в равной степени, а в плевре преобладающими являются умеренные. Содержание сильно дегранулированных ТК минимально и в плевре, и в интерстиции. Гистохимический индекс, характеризующий степень насыщения клеток секреторным материалом, в популяции ТК в плевре достоверно превышает таковой в интерстиции (рис. 2В).

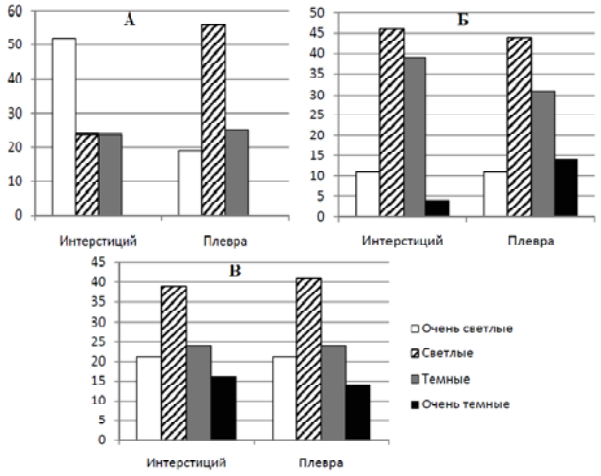


Рис. 1. Цитограмма популяции тучных клеток в легких крыс после длительного воздействия АНОГ
Примечание: А – контрольная группа, Б – 30-ти суточная АНОГ (группа ОП1), В – 14-ти суточная повторная АНОГ (группа ОП2). По оси ординат – содержание клеток в %.

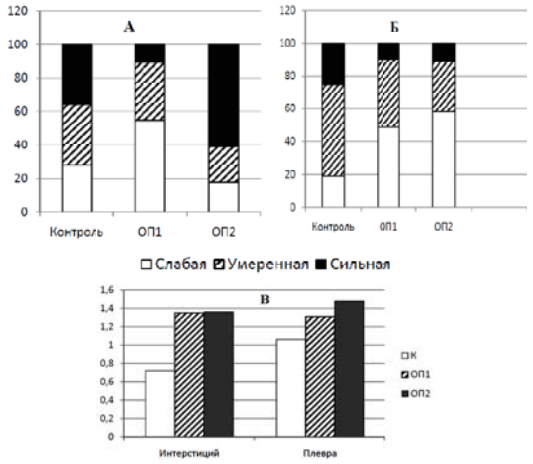


Рис. 2. Степень дегрануляции тучных клеток и гистохимический коэффициент в легких крыс после длительного воздействия АНОГ в различных режимах.
Примечание: А – интерстиций легких, Б-плевра, В – гистохимический коэффициент. К – контрольная группа, ОП1 (опытная группа 1) – 30-ти суточная АНОГ, ОП2 (опытная группа 2) – 14-ти суточная повторная АНОГ. А и Б – по оси ординат – содержание клеток в %

У экспериментальных животных выявлено увеличение числа ТК и в интерстиции легких, и в плевре. Наиболее выражено увеличение количества выявляемых ТК у животных первой опытной группы, т.е. после однократного 30-ти суточного воздействия АНОГ (в интерстиции в 1,5 раза, в плевре – в 4,4 раза). После повторного воздействия АНОГ (вторая опытная группа) содержание ТК в интерстиции практически не изменилось по сравнению с контролем, а в плевре увеличилось в 2,3 раза. Следует отметить, что у экспериментальных животных количество ТК в плевре достоверно преобладало над их содержанием в интерстиции. Причем в интерстиции ТК выявлялись преимущественно в периваскулярных зонах лёгких, в наибольшей степени во 2-ой опытной группе, т.е. после повторного воздействия АНОГ. Здесь обнаруживаются группы плотно расположенных ТК. В цитограмме популяции ТК в легких у животных после длительного воздействия АНОГ (рис. 1) по сравнению с контролем резко сократилось число очень светлых клеток и увеличилось количество светлых и темных, а также выявлялись очень темные клетки, которые отсутствовали в контроле. Причем доля светлых и темных ТК преобладала как в интерстиции легких, так и в плевре у животных обеих групп. Однако наибольшее увеличение доли светлых и темных клеток отмечено после 30-ти суточного воздействия АНОГ, а более значимое увеличение доли очень темных клеток – после повторного 14-ти суточного воздействия АНОГ. Гистохимический коэффициент у опытных животных превышал показатели в контроле и в интерстиции легких, и в плевре, наиболее значимо – в плевре. Установлено, что в популяции ТК в интерстиции и в плевре легких у опытных животных изменяется соотношение клеток с разной степенью дегрануляции (рис. 2А,Б). Так, в интерстиции легких у животных первой опытной группы по сравнению с контрольными увеличилось число ТК со слабой степенью дегрануляции и статистически значимо сократилась доля ТК с сильной степенью дегрануляции. Во второй опытной группе, наоборот, преобладающими являлись ТК с сильной степенью дегрануляции. В плевре отмечено преобладание слабой степени дегрануляции ТК и резкое сокращение ТК с сильной степенью дегрануляции.

Процесс выделения секрета тучными клетками заслуживает особого внимания, т.к. он зависит от набора рецепторов, воспринимающих информацию о состоянии внутренней среды, и триггеров, вызывающих выделение биологически активных веществ. В литературе описаны три способа выделения секрета тучными клетками (дегрануляции): постепенная дегрануляция, экзоцитоз и быстрая дегрануляция [4]. Различные способы дегрануляции тучных клеток обеспечивают адекватное поступление во внутреннюю среду организма биологически активных веществ в зависимости от его функционального состояния. Триггерами

для тучных клеток являются – рилизинг-факторы, гормоны, интерлейкины, ферменты, активные формы кислорода. Ингибиторами являются хондроитин, гепарин, интерлейкин-10, оксид азота, трансформирующий фактор роста-β и др.

Нами отмечено, что у контрольных животных преобладал способ быстрой дегрануляции, о чем свидетельствует преобладание в цитограмме очень светлых и светлых клеток, а также клеток сильно и умеренно дегранулированных, а у опытных выделение секрета ТК осуществлялось преимущественно способом постепенной дегрануляции, т.к. значительную часть популяции представляют темные и очень темные клетки и клетки с умеренной и слабой степенью дегрануляции. Что в наиболее полной мере отвечало потребностям органа. При однократном 30-ти суточном воздействии АНОГ численность тучных клеток в легких резко возрастает, что, по-видимому, характеризует значительное напряжение регуляторных механизмов в экстремальных для органа условиях. Повторное 14-ти суточное воздействие АНОГ в меньшей степени вызывало реакцию тучных клеток, однако направленность реакции сохранялась. Показано [1], что при длительном до 1 года воздействии моделируемых условий космического полета и в условиях реального космического полета у космонавтов и испытателей наблюдается ряд характерных реакций со стороны паренхиматозных органов. Выявлено достоверное увеличение размеров и объема печени, селезенки, поджелудочной железы, почек, кровенаполнения легких, размеров магистральных сосудов брюшной полости. Спустя 4 месяца после полета полной нормализации не наблюдалось. Предполагают, что это является проявлением исчерпания резервов регуляции внутриорганной гемодинамики.

Выводы. Таким образом, исследование показало, что:

– В условиях моделируемой микрогравитации достоверно увеличивается количество выявляемых тучных клеток в легких, что обусловлено необходимостью поддержания гомеостаза тканей и местной регуляции.

– Значительное увеличение численности популяции ТК в тканях легких при 30-ти суточном однократном воздействии происходит вследствие выраженных изменений в органе, вызванных действием микрогравитации.

– Реакция популяции ТК на повторное 14-ти суточное воздействие имеет типичную направленность, но меньшую степень выраженности, что свидетельствует о более быстрой адаптации к условиям АНОГ по сравнению с однократным воздействием.

– В физиологических условиях преимущественным способом дегрануляции тучных клеток является быстрая дегрануляция, после воздействия микрогравитации преобладает постепенная дегрануляция, наиболее отвечающая запросам функционального состояния органа в условиях врздействия повреждающего фактора.

HISTOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POPULATION OF MAST CELLS IN LUNGS OF RATS AT LONG-TERM EXPOSURE MICROGRAVITATION

L.M. EROFEEVA

Scientific Research Institute of Human Morphology" (state University of NIIMS), Tsyurupy Str., 3, Moscow, 117418, Russia, tel.: 8-499-120-80-65, e-mail: morfolhum@mail.ru, www.morfolhum.ru

Abstract. The characteristic of populations of mast cells (MC) in male Wistar albino rats' lung after long exposure antiorthostatic hypokinesia (ANOG) single and repeated exposure is presented. The ANOG was modeled by fixing the rats behind the bell upside down so that the hind legs were 1 cm above the floor. To characterize the functional state of the population of mast cells, a cytogram was counted, the degranulation index and the average histochemical index were determined. It is shown that for a single 30-minute daily exposure ANOG the number of fat cells in the lungs increases dramatically, that it appears that characterizes a significant voltage of regulatory mechanisms in extreme conditions for the authority. Repeated 14-minute daily exposure to a lesser extent ANOG caused the reaction of mast cells, however, thrust reaction continued. Analysis of citogramm showed that the control animals dominated the method of rapid degranulation, as evidenced by the dominance of the citogramme very bright and light cells as well as cells strongly and moderately degranulated and experienced the secret TC carried out mostly means gradual degranula-

tion, because a significant portion of the population are dark and very dark cells and cells with moderate and mild degree degras.

That's the most fully meet the needs of the body.

Key words: mast cell, hypokinesia, microgravity, intersticia lungs, pleura.

Литература

1. Бедненко В.С., Ступаков Г.П. Изменения состояния внутренних органов в длительных космических полетах // Первый Российский конгресс по патофизиологии. Тезисы докладов, 1996. С. 326–327.

2. Линднер Д.П., Поберий И.А., Розкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток // Архив патологии. 1980. Т. 42, № 6. С. 60–64.

3. Яглова Н.В. Цитофизиологические особенности популяции тучных клеток щитовидной железы при воздействии липополисахарида // Морфологические ведомости. 2008. № 3-4. С. 94–98.

4. Яглова Н.В., Яглов В.В. Биология секреции тучных клеток // Клиническая и экспериментальная морфология. 2012. № 4. С. 4–10.

5. Coulombe M., Battistini B., Stankova J., Pouliot P., Bissonnette E.Y. Endothelins regulate mediator production of rat tissue-cultured mucosal mast cells. Up-regulation of Th1 and inhibition of Th2 cytokines // J. Leukoc. Biol. 2002. Vol. 71, № 5. P. 829–836.

6. Fitzgerald S.M., Lee S.A., Hall H.K., Chi D.S., Krishnaswamy G. Human lung fibroblasts express interleukin-6 in response to signaling after mast cell contact // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2004. Vol. 30, № 4. P. 585–593.

7. Ogasawara T., Murakami M., Suzuki-Nishimura T., Uchida M.K., Kudo I. Mouse bone marrow-derived mast cells undergo exocytosis, prostanoid generation, and cytokine expression in response to G protein-activating polybasic compounds after coculture with fibroblasts in the presence of c-kit ligand // J. Immunol. 1997. Vol. 158, № 1. P. 393–404.

8. Plante S., Semlali A., Joubert P., Bissonnette E., Laviolette M., Hamid Q., Chakir J. Mast cells regulate procollagen I (alpha 1) production by bronchial fibroblasts derived from subjects with asthma through IL-4/IL-4 delta 2 ratio // J. Allergy Clin. Immunol. 2006. Vol. 117, № 6. P. 1321–1327.

9. Tachibana M., Wada K., Katayama K., Kamisaki Y., Maeyama K., Kadowaki T., Blumberg R.S., Nakajima A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma suppresses mast cell maturation involved in allergic diseases // Allergy. 2008. Vol. 63, № 9. P. 1136–1147.

References

1. Bednenko VS, Stupakov GP. Izmeneniya sostoyaniya vnutrennih organov v dlitel'nyh kosmicheskih poletah. Pervyj Rossijskij kongress po patofiziologii. Tezisy dokladov [Changes in the state of internal organs in long-term space flights. The first Russian Congress on pathophysiology. Thesis of reports]; 1996. Russian.

2. Lindner DP, Poberij IA, Rozkin MYA, Efimov VS. Morfometricheskij analiz populyacii tuchnyh kletok [Morphometric analysis of mast cell population]. Arhiv patologii. 1980;42(6):60-4. Russian.

3. YAglova NV. Citofiziologicheskie osobennosti populyacii tuchnyh kletok shchitovidnoj zhelezy pri vozdejstvii lipopolisaharida [Cytophysiological features of the population of mast cells of the thyroid gland under the influence of lipopolysaccharide]. Morfo-logicheskie vedomosti. 2008;3-4:94-8. Russian.

4. YAglova NV, YAglov VV. Biologiya sekrecii tuchnyh kletok [Biology of mast cell secretion]. Klinicheskaya i ehksperimental'naya morfologiya. 2012;4:4-10. Russian.

5. Coulombe M, Battistini B, Stankova J, Pouliot P, Bissonnette EY. Endothelins regulate mediator production of rat tissue-cultured mucosal mast cells. Up-regulation of Th1 and inhibition of Th2 cytokines. J. Leukoc. Biol. 2002;71(5):829-36.

6. Fitzgerald SM, Lee SA, Hall HK, Chi DS, Krishnaswamy G. Human lung fibroblasts express interleukin-6 in response to signaling after mast cell contact. Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2004;30(4):585-93.

7. Ogasawara T, Murakami M, Suzuki-Nishimura T, Uchida MK, Kudo I. Mouse bone marrow-derived mast cells undergo exocytosis, prostanoid generation, and cytokine expression in response to G protein-activating polybasic compounds after coculture with fibroblasts in the presence of c-kit ligand. J. Immunol. 1997;158(1):393-404.

8. Plante S, Semlali A, Joubert P, Bissonnette E, Laviolette M, Hamid Q, Chakir J. Mast cells regulate procollagen I (alpha 1) production by bronchial fibroblasts derived from subjects with asthma through IL-4/IL-4 delta 2 ratio. J. Allergy Clin. Immunol. 2006;117(6):1321-7.

9. Tachibana M, Wada K, Katayama K, Kamisaki Y, Maeyama K, Kadowaki T, Blumberg RS, Nakajima A. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma suppresses mast cell maturation involved in allergic diseases. Allergy. 2008;63(9):1136-47.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 153–159
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 153–159

УДК: 611.41-018

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ СЕЛЕЗЕНКИ ЧЕЛОВЕКА

В.Б. ЗАЙЦЕВ[*], Н.С. ФЕДОРОВСКАЯ[**], Л.М. ЖЕЛЕЗНОВ[*]

[*]ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ», ул. К. Маркса, д. 112, г. Киров, 610998, Россия,
e-mail: kf7@kirovgma.ru, lmz-a@mail.ru
[**]ФГБУН Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России,
Красноармейская ул., 72, г. Киров, 610027, Россия, e-mail: fednadst@mail.ru

Аннотация. Цель исследования – установить морфометрические особенности структуры селезенки человека в сопоставлении с основными этапами иммунного ответа.

Материал и методы: Работа выполнена на аутопсийном материале селезенок, взятых у 20 человек (12 мужчин, 8 женщин) в возрасте от 27 до 65 лет (медиана возраста – 39 лет).

Принципиальным подходом к оценке и пониманию особенностей структуры селезенки, размеров ее функциональных зон и распределения иммунокомпетентных клеток в норме явился пересчет морфометрических показателей с учетом массы органа. В результате гистологических, иммуногистохимических и морфометрических исследований образцов селезенки лиц, не имевших в анамнезе заболеваний системы кроветворения и другой патологии, определены минимальные и максимальные величины относительных (%) и абсолютных значений массы (г) белой пульпы и ее компартментов, величины красной пульпы, а также содержания клеточных элементов в этих функциональных зонах. Установлено, что характеристики параметров белой и красной пульпы зависят от миграционных свойств иммунокомпетентных клеток, степени активности иммунных процессов, происходящих в различных компартментах указанных зон. В соответствии с полученными данными нам представляется возможным выделить три этапа течения иммунореактивных процессов в функциональных зонах селезенки.

Подобные закономерности расширяют представления об иммуноморфологических особенностях этого вторичного лимфоидного органа. Представленные параметры могут иметь основополагающее значение для анализа морфологии селезенки в интерпретации ее изменений при диагностике заболеваний с поражением органов иммунной системы.

Ключевые слова: селезенка, морфометрия, иммуногистохимия, этапы иммунного ответа.

Актуальность. Селезенка является одним из самых сложных периферических органов иммунной системы. Малочисленность и противоречивость сведений относительно строения селезенки обусловлены тем, что изучение ее структуры преимущественно проводится у различных видов лабораторных животных с последующей экстраполяцией полученных данных на человека. Единичные исследования, выполненные с использованием гистологического материала селезенки человека, не отражают в полной мере все стороны морфометрического изучения размеров компартментов пульпы органа и состояния ее клеточного состава [4,8,11,12,13].

Известные результаты измерений структурных составляющих *белой пульпы* (БП) и *красной пульпы* (КП) в норме чаще всего разрозненны и не представляют систематизированного обоснованного материала, для возможного использования при анализе реактивных изменений, отражающих динамику иммунных процессов [1,3]. Объяснение этому, по-видимому, кроется в недостаточной разработке методологии морфометрии органа, имеющего в своей структуре зоны с разным строением и функциями, включающими субпопуляции клеточных элементов, отличающиеся по иммунофенотипу, что предопределяет специфические межклеточные взаимодействия. При этом для осуществления своих функций клетки в селезенке активно перемещаются в определенных направлениях [10].

Цель исследования – установить морфометрические особенности структуры селезенки человека в сопоставлении с основными этапами иммунного ответа.

Материалы и методы исследования. Для анализа использовались аутопсийные образцы селезенок у 20 человек (12 мужчин, 8 женщин), скончавшихся скоропостижно и не имевших в анамнезе заболеваний системы крови и другой

патологии органа. Медиана возраста – 39 (27; 65) лет. Средняя масса селезенки составляла 122,5 (115; 143,8) г. Исследование проведено в соответствие с современными принципами биомедицинской этики и безопасности клинических исследований (протокол заседания локального этического комитета при ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России № 02/2018).

Фиксация материала проводилась в 10% нейтральном формалине. Исследовались парафиновые гистологические срезы толщиной 3-5 мкм по стандартным методам окраски: гематоксилином и эозином. Для дифференцировки *B*- и *T*-клеточных зон БП селезенки, а также для изучения особенностей распределения основных клеточных популяций в функциональных зонах органа использовалось *иммуногистохимическое* (ИГХ) окрашивание первичными антителами фирм «*Dako*» (Дания) и «*BioGenex*» (США) в готовых разведениях, система визуализации *EnVISION, PEROXIDASE* (*DAB*+) фирмы «*Dako*» (Дания). Морфометрию проводили с помощью светового микроскопа «Leica» (Германия) со встроенной фото-видеокамерой и программного обеспечения анализа изображений *ImageScope Color*, версии M (в 20 полях зрения, об. ×10, ×20, ×100, ок. ×10). Измеряли площади БП и КП, площади компартментов БП: *маргинальной зоны* (МЗ), *периартериальных лимфоидных муфт* (ПАЛМ), *лимфоидных узелков* (ЛУ) и *герминативных центров* (ГЦ). Пересчет показателей с учетом массы органа выполнялся по оригинальной формуле [6]. Соответственно в БП и КП проводились морфометрические исследования клеточных популяций.

Для статистической обработки применялась программа *SPSS для Windows Version* 17.0. Результаты исследований представлены с указанием медианы, а также нижнего (25%) и верхнего (75%) квартиля.

Результаты и их обсуждение. Принципиальным подходом к оценке и пониманию особенностей структуры селезенки, размеров ее функциональных зон и распределения *иммунокомпетентных клеток* (ИКК) в норме явился пересчет морфометрических показателей с учетом массы органа. В результате гистологических, иммуногистохимических и морфометрических исследований образцов селезенки лиц, не имевших в анамнезе заболеваний системы кроветворения и другой патологии, были получены минимальные и максимальные величины относительных (%) и абсолютных значений (г) размеров БП и ее компартментов, величины КП, а также содержания клеточных элементов в данных функциональных зонах.

С помощью компьютерных морфометрических технологий определены площади функциональных зон селезенки. Площадь БП селезенки человека в норме занимает значительно меньший объем, по сравнению с КП, данные представлены в табл. 1 и 2. Среди компартментов БП в селезенке человека преобладают ЛУ, чаще всего без ГЦ [13]. В меньшей степени в нормальной селезенке представлены ПАЛМ. МЗ вне активности иммунных процессов практически не выражена.

Таблица 1

Относительные и абсолютные значения величин компартментов белой пульпы селезенки человека

Параметр	Значение	
	Площадь, %	Масса, г
БП	10,6 (9,5; 12,5)	13,1 (11,9; 14,9)
МЗ	1,2 (0,9; 2,1)	1,5 (0,9; 2,3)
ПАЛМ	3,3 (2,6; 4,6)	4,6 (3,0; 5,2)
ЛУ	5,8 (4,8; 6,8)	7,5 (5,5; 8,9)
ГЦ	0 (0; 0,7)	0 (0; 1,0)

Большинство *T*- и *B*-лимфоидных элементов БП селезенки являются частью рециркулирующего пула лимфоцитов, непрерывно мигрирующих по всем лимфоидным органам и другим тканям. БП и ее компартменты могут менять свои размеры за счет миграционных процессов *иммунокомпетентных клеток* (ИКК) в ходе иммунных реакций.

КП занимает большую часть всей пульпы органа (табл. 2). Медиана величины массы капсулы, трабекул и сосудов соответствует 15,95 (15,0; 18,73) г., что согласуется с данными литературы [5].

Таблица 2

Морфометрические параметры красной пульпы селезенки человека

Параметр	Значение	
	Площадь, %	Масса, г
КП	76,4 (74,6; 77,5)	93,1 (86,5; 109,3)

Как известно, активированные макрофаги (*CD*68) и клетки стромы выделяют цитокины и хемокины, которые обусловливают развитие сосудистых и клеточных реакций [2,9]. При этом повышается интенсивность кровотока в

селезенке, усиление рециркуляции и «улавливания» лимфоцитов (*CD*20; *CD*3). Вместе с тем, активированные *Т*-лимфоциты, плазматические клетки из различных отделов БП поступают в КП, а затем покидают селезенку для выполнения своих функций на периферии.

Количественный состав ИКК в селезенке оценивался с использованием специфических иммуногистохимических маркеров. Лимфоциты локализовались преимущественно в БП, с преобладанием тех или иных субпопуляций в соответствующих *Т*- и *В*-зависимых зонах. В КП лимфоидные элементы встречались в небольшом количестве.

Таблица 3

Относительные и абсолютные значения состава популяций иммунокомпетентных клеток селезенки

Параметр	Селезенка	Белая пульпа	Красная пульпа
*CD*20 (%) (г)	8,8 (7,0; 10,9) 11,2 (7,5; 16,2)	47,1 (34,3; 55,9) 6,0 (4,7; 7,2)	5,0 (2,9; 8,4) 4,5 (2,8; 7,8)
*CD*3 (%) (г)	4,8 (1,1; 5,8) 8,3 (5,4;11,0)	13,2 (9,3; 20,4) 2,0 (1,5;4,3)	5,2 (4,4; 7,4) 5,2 (3,5; 7,3)
*CD*4 (%) (г)	5,5 (4,2; 7,4) 6,7 (4,8; 9,4)	12,5 (9,1; 16,6) 1,6 (1,2; 2,8)	4,6 (4,0; 6;8) 4,9 (3,2; 6,2)
*CD*8 (%) (г)	0,5 (0,3; 0,9) 0,6 (0,4; 1,1)	0 (0; 0,6) 0 (0; 0,7)	0,4 (0,3; 0,7) 0,4 (0,3; 0,6)
*CD*68 (%) (г)	5,4 (4,0; 6,9) 5,9 (4,8; 8,9)	2,0 (1,2; 2,8) 0,3 (0,2; 0,4)	6,0 (5,0; 8,5) 5,5 (4,6; 8,2)
*CD*11*c* (%) (г)	11,5 (8,5; 13,6) 13,3 (11,7;17,8)	13, 1 (8,9; 16;9) 1,7 (1,5; 2,0)	12,7 (9,6; 15,5) 11,2 (10,0; 14,3)
*CD*57 (%) (г)	3,2 (2,3; 4,7) 4,2 (2,6;6,5)	0 0	4,5 (3,0;5,9) 4,2 (2,6;6,5)
*MAC*387(%) (г)	17,7 (11,9; 21,6) 20,1 (13,2; 26,1)	0 0	21,6 (15,3;23,9) 20,1 (13,2; 26,1)
*CD*35 (%) (г)	1,0 (0,7; 1,3) 1,2 (0,8;1,9)	1,3 (0,9;1,7) 1,2 (0,8;1,9)	0 0
*S*100 (%) (г)	0,8 (0,6; 0,9) 1,0 (0,7;1,3)	1,1 (0,8;1,2) 1,0 (0,7;1,3)	0 0
MPO (%) (г)	9,7 (8,2; 11,0) 11,4 (9,0;15,8)	0 0	12,8 (10,9;14,5) 11,4 (9,0;15,8)

В результате морфометрических исследований установлено, что *В*-лимфоциты (*CD*20+), преобладают в БП – ЛУ и МЗ. Вместе с тем, *Т*-лимфоциты (*CD*3+) имеют преимущественную локализацию в КП, как за счет *Т*-хелперов (*CD*4+), так и цитотоксических *Т*-лимфоцитов (*CD*8+). Выявленное относительное преобладание *CD*4+ клеток в БП, отмечалось в ПАЛМ. Большая часть тканевых макрофагов (*CD*68+), а также гранулоцитов (*MAC*387+) и клеток моноцитарно-гистиоцитарного ряда, экспрессирующих *CD*11*c* была локализована в основном в КП органа, а в БП они определялись в единичном количестве. Популяция *MAC*387+ и MPO-положительных клеток располагалась преимущественно по периферии МЗ в виде ободка. Клетки *CD*57+ (*NK*), интердигитальные (*S*100+) и фолликулярные (*CD*35+) *дендритные клетки* (ДК) – определялись в МЗ и КП селезенки, единичные клетки выявлялись в ПАЛМ и ЛУ.

Установлено, что колебания размеров параметров составляющих БП и КП зависят от степени активности иммунных процессов, происходящих в различных компартментах этих зон. В соответствии с полученными данными нам представляется возможным выделить три этапа течения иммунореактивных процессов в функциональных зонах селезенки.

I этап. *Поступление в селезенку антигенов, свободных или связанных с антигенпредставляющими клетками (АПК). Распознавание антигена.* МЗ содержит резидентные (нециркулирующие) *В*-клетки (*CD*20) и макрофаги (*CD*68), а также рециркулирующие клетки [14]. Макрофаги МЗ считаются относительно фиксированными клетками, вместе с тем, некоторые из них мигрируют в другие отделы БП, транспортируя связанные с ними антигены. Из МЗ антигенный материал, фагоцитированный и расщепленный на части макрофагами, транспортируется в *В*-клеточные зоны. Антигены, связанные с макрофагами или *В*-лимфоцитами МЗ, переносятся в ЛУ и могут депонироваться на *фолликулярных дендритных клетках* (ФДК) в составе иммунных комплексов. Следовательно, морфологической характеристикой селезенки на первом этапе будет: широкая МЗ, небольшие ПАЛМ и ЛУ без ГЦ, умеренно-клеточная КП (рис. 1).

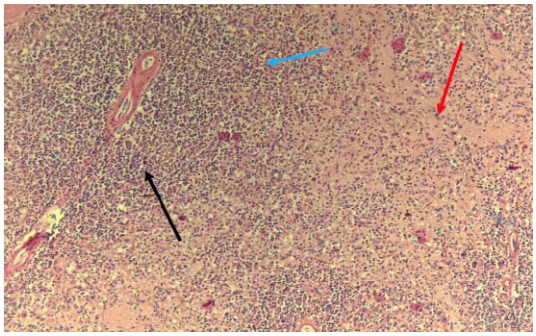


Рис. 1. Селезенка человека, I этап иммунного ответа. БП (черная стрелка) представлена небольшими ПАЛМ и ЛУ без ГЦ. МЗ – широкая (синяя стрелка). КП – умеренно клеточная (красная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. ×10, Об. ×10.

II этап. *Формирование эффекторов: развитие иммунных реакций, презентация обработанных*

антигенов Т-хелперам; выбор пути дифференцировки CD4+ Т-клеток в направлении Th1- или Th2-хелперов; развитие гуморального иммунного ответа. Известно, что иммунные реакции на большинство белковых антигенов требуют участия антиген-специфичных *Т*-лимфоцитов-хелперов (*CD*4+). Основой для клеточного взаимодействия служит распознавание антигенного эпитопа рецепторами лимфоцитов. Для первичного иммунного ответа активация *Т*-хелперов зависит от взаимодействия с АПК (ДК, макрофаги, *В*-лимфоциты), приносящими антигены в ПАЛМ. Узнавание антигенов *Т*-клеточными рецепторами обеспечивает первый сигнал активации *Т*-клеток [7,8].

Поскольку АПК рециркулируют через ПАЛМ или через МЗ, с дальнейшей их миграцией в ПАЛМ, антигенспецифический сигнал эти клетки передают *Т*-хелперам для запуска тимусзависимого гуморального, а также цитотоксического *Т*-клеточного иммунных ответов. После нескольких делений, при воздействии цитокинов, из наивных *Т*-клеток образуются субпопуляции Т-хелперы 1 типа (*Th*1) и *Т-хелперы 2 типа* (*Th*2), соотношение которых определяет преимущественное направление развития иммунных процессов. В ПАЛМ чаще всего образуются *Th*1, которые не нуждаются в представлении антигена *В*-лимфоцитами, тогда как в зонах контакта *В*- и *Т*-клеток образуются в основном *Th2*-клетки [14,15].

ПАЛМ, являясь *Т*-зависимой зоной БП селезенки, содержат *Т*-лимфоциты (*CD*3), среди которых преобладают *CD*4+ клетки, в меньшем количестве встречаются лимфоидные элементы, экспрессирующие *CD*8+. Изменение размеров этой зоны отражает степень активности *Т*-клеточных процессов, происходящих в БП на этом этапе иммунного ответа.

Гуморальный иммунный ответ развивается после того, как *В*-лимфоцит получает специфический антигенный сигнал и ряд дополнительных сигналов от *Т*-хелперов [15]. Антиген, расположенный на поверхности ФДК (при наличии *Т*-лимфоцитарной помощи), представляется находящемуся в покое *В*-лимфоциту (экспрессирующему соответствующий, определенный этим антигеном, *В*-лимфоцитарный рецептор). В результате происходит активация *В*-лимфоцитов, их пролиферация и дифференцировка [10,15].

На величину ЛУ влияют вид антигена, его доза и время персистирования в организме. Как известно, в ЛУ до поступления антигена содержатся исключительно В-лимфоциты (*CD*20). Начальные события, связанные с распространением антигена и взаимодействием *В*- и *Т*-лимфоцитов, происходят в окружении первичных ЛУ, на границе между *В*- и *Т*-лимфоидными зонами. При участии *Т*-лимфоцитов (*CD*4+ хелперов) осуществляется образование ГЦ, в результате чего первичные ЛУ превращаются во вторичные. Именно на этом этапе происходит формирование гуморального иммунного ответа.

Индукция антителообразования структурно связана с ГЦ, реагирующими на антигенную стимуляцию. *В*-клетки направляются в смежные первичные ЛУ в ответ на хемотаксические цитокины, образуемые ФДК. После того, как ограниченные в ЛУ, активизированные *В*-лимфоциты взаимодействуют с антигеном, который был захвачен ФДК, происходит их дальнейшая стимуляция, вызывающая увеличение ГЦ [8,9,10]. Функциональная активность ЛУ определяется тем, на какой стадии развития находятся их ГЦ. В период активности ГЦ – данная область увеличивается. Уменьшение параметра связано с процессом обратного развития ГЦ.

В связи с описанными механизмами развития иммунных процессов, с помощью морфометрического анализа нами установлены характеристики гистоархитектоники селезенки на втором этапе: увеличение БП, преимущественно за счет МЗ, ПАЛМ и ЛУ с ГЦ. КП при этих процессах – умеренно-клеточная (рис. 2).

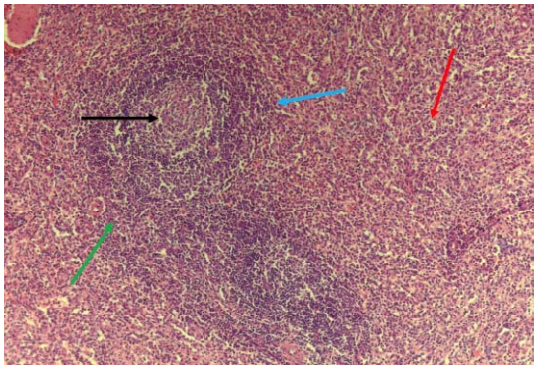


Рис. 2. Селезенка человека, II этап иммунного ответа. Отмечается увеличение размеров БП, преимущественно за счет МЗ (синяя стрелка), ПАЛМ (зеленая стрелка), ЛУ с выраженными ГЦ (черная стрелка). КП – умеренно клеточная (красная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. ×10, Об. ×10.

III этап. *Эффекторная часть иммунного ответа. Формирование эффекторного звена им-*

мунной реакции происходит путем дифференцировки клона В-лимфоцитов и образования цитотоксических Т-лимфоцитов. На этом этапе бласттрансформированные В-клетки дифференцируются в клетки памяти и плазматические клетки, секретирующие антитела. Значительная часть плазматических клеток мигрирует в МЗ и в КП селезенки, а затем покидает этот лимфоидный орган [11-13].

Субпопуляция *Th*1 *CD*4+ *Т*-лимфоцитов (эффекторные *Т* клетки) в центральных ПАЛМ секретирует провоспалительные цитокины (типа интерферона-γ), что способствует разнообразным воспалительным реакциям. Эти клеточные элементы могут поступать в КП и затем мигрировать к участкам депонирования антигена на периферии.

Точно так же *CD*8+ *Т*-лимфоциты рециркулируют через ПАЛМ и, если они входят в контакт с родственным антигеном на АПК, они активируются, клонально пролиферируют и дифференцируются в цитотоксические *Т*-лимфоциты. Образующиеся эффекторные *Т*-клетки (*CD*8+) имеют важное значение в разнообразных реакциях организма, включая отторжение аллотрансплантата, защиту против многих вирусных инфекций и в аутоиммунных процессах [14,15].

Поглощение антигенов клетками стромы КП важно не только для деструкции патогенов, но и является первым этапом в индукции как первичного, так и вторичного иммунного ответа [11,13]. Задержка антигенов в КП, прикрепление к ним антител формирует иммунные комплексы, которые через *Fc*-области *Ig* взаимодействуют с рецепторами на фагоцитах и других клетках стромы органа. Опсонизированные антителами циркулирующие антигены вовлекают в фагоцитоз *FcR*-положительные клетки, включая макрофаги и нейтрофилы КП [14].

Величина площади КП селезенки на разных этапах иммунного ответа также претерпевает существенные изменения, за счет активных миграционных свойств клеток. Расширение этой функциональной зоны может быть обусловлено ее повышенным кровенаполнением или увеличением клеточного состава в пульпарных тяжах вследствие миграции ИКК. Обратные процессы ведут к уменьшению размеров КП селезенки.

В настоящем исследовании установлено, что на третьем этапе развития иммунных реакций в селезенке выявляется уменьшение размеров БП. МЗ, ПАЛМ, ЛУ и ГЦ – в стадии обратного развития. Вместе с тем, отмечается расширение КП, увеличение ее клеточного состава (рис. 3).

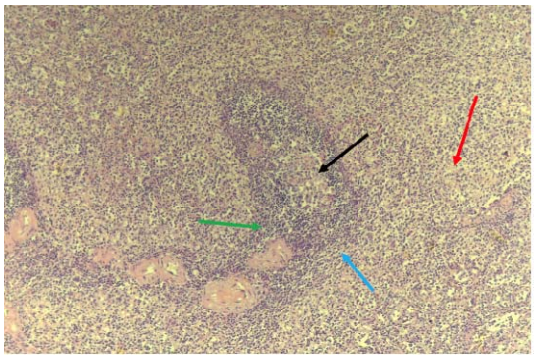


Рис. 3. Селезенка человека, III этап иммунного ответа. МЗ (синяя стрелка), ПАЛМ (зеленая стрелка), ЛУ и ГЦ (черная стрелка) – в стадии обратного развития. Отмечается увеличение клеточного состава КП (красная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. ×10, Об. ×10

Заключение. Следовательно, популяции ИКК в норме имеют строгие механизмы распределения в функциональных зонах селезенки. Подобные закономерности расширяют представления об иммуноморфологических особенностях этого важного вторичного лимфоидного органа. Для изучения гистоархитектоники селезенки необходимо понимание явлений миграции клеточных элементов, их перераспределения в БП и КП с учетом этапов иммунного ответа. Данные процессы влияют на вес органа и, соответственно, его компартментов. Морфометрическое исследование селезенки с использованием величины ее массы является достаточно объективным и рациональным. Представленные параметры могут иметь основополагающее значение для анализа морфологии селезенки в интерпретации ее изменений при диагностике заболеваний с поражением органов иммунной системы.

MORPHOMETRIC FEATURES OF THE STRUCTURE OF THE HUMAN SPLEEN

V.B. ZAITSEV[*], N.S. FEDOROVSKAYA[**], L.M. ZHELEZNOV[*]

[*]Kirov State Medical University, K. Marks Str., 112, Kirov, 610998, Russia,
e-mail: kf7@kirovgma.ru, lmz-a@mail.ru
[**]Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the FMBA of Russia,
Krasnoarmeyskaya Str., 72, Kirov, 610027, Russia, e-mail: fednadst@mail.ru

Abstract. The study purpose was to reveal the morphometric features of the structure of the human spleen in comparison with the main stages of the immune response.

Material and methods: The work was performed on the autopsy material of spleen taken from 20 people (12 men, 8 women) aged 27 to 65 years (median of age 39 years).

A fundamental approach to evaluating and understanding the spleen structure, the size of its functional areas and the immune competent cells distribution as a norm was the recalculation of morphometric parameters, taking into account the body mass. Histological, immune-histochemical and morphometric studies of spleen samples of persons without a history of hematopoietic system diseases or other pathologies gave the minimum and maximum values of relative (%) and absolute (g) sizes of the white pulp and its compartments, the magnitude of the red pulp, as well as the content of cellular elements in these functional areas. It is determined that fluctuations in the sizes of the options components of the white and red pulps are dependent on the migratory properties of immune cells, the degree of the activity of immune processes occurring in different compartments of these zones. According to the data obtained, it is possible to distinguish three stages of immune reactive processes in the spleen functional areas.

Such patterns expand the understanding of the immune morphological features of this secondary lymphoid organ. The presented parameters can be of fundamental importance for the analysis of the morphology of the spleen in the interpretation of its changes in the diagnosis of diseases with damage to the organs of the immune system.

Key words: spleen, morphometry, immune histochemistry, immune response stages.

Литература

1. Волков В.П. Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. 2015. № 5-6 (18).

2. Зайцев В.Б., Абдуллин Т.Г., Муслимов С.А. Морфогенез и гистофизиология системы мононуклеарных фагоцитов человека: учеб. пособие для студентов мед. вузов / под ред. В. А. Черешнева ; Кировская гос. мед. академия Росздрава. Всерос. Центр гл. и пл. хирургии. Киров-Уфа: Дом печати–Вятка, 2009. 140 с.

3. Зайцев В.Б., Федоровская Н.С., Дьяконов Д.А. Иммуноморфология селезенки человека // Морфология. 2013. Т. 143, №3. С. 27–31.

4. Макалиш Т.П. Морфофункциональные особенности селезенки при воздействии на организм факторов различного генеза // Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16, № 61. С. 265–269.

References

1. Volkov VP. Novyj algoritm morfometricheskoj ocenki funkcional'noj immunomorfologii selezenki [New algorithm of morphometric assessment of functional immunomorphology of spleen]. Universum: Medicina i farmakologiya: ehlektron. nauchn. zhurn. 2015;5-6(18). Russian.

2. Zajcev VB, Abdullin TG, Muslimov SA. Morfogenez i gistofiziologiya sistemy mononuklearnyh fagocitov cheloveka: ucheb. posobie dlya studentov med. Vuzov. pod red. V.A. CHereshneva; Kirovskaya gos. med. akademiya Roszdrava. Vseros. Centr gl. i pl. hirurgii [Morphogenesis and histophysiology of human mononuclear phagocytes: studies. a textbook for students med. Higher educational. edited by V. A. Chereshnev; Kirov state medical. Academy. All grown. The centre of the main square surgery]. Kirov-Ufa: Dom pechati–Vyatka; 2009. Russian.

3. Zajcev VB, Fedorovskaya NS, D'yakonov DA. Immunomorfologiya selezenki cheloveka [Immunomorphology of human spleen]. Morfologiya. 2013;143(3):27-31. Russian.

4. Makalish TP. Morfofunkcional'nye osobennosti selezenki pri vozdejstvii na organizm faktorov razlichnogo geneza [Morphofunctional characteristics of the spleen in the effects on the body factors of various origins]. Tavricheskij mediko-biologicheskij vest-

5. Молдавская А.А., Долин А.В. Морфологические критерии строения селезенки в постнатальном онтогенезе // Морфологические ведомости. 2007. № 3/4. С. 268–269.

6. Федоровская Н.С., Дьяконов Д.А., Федоровская Н.А. Способ прогнозирования течения апластической анемии после спленэктомии // Патент на изобретение № 2535059 от 08.10.2014.

7. Чулкова С.В., Стилиди И.С., Глухов Е.В. Селезенка – периферический орган иммунной системы. Влияние спленэктомии на иммунный статус // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2014. Т. 25, №1-2. С. 21–24.

8. Cesta M.F. Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen // Toxicologic Pathology. 2006. № 34. P. 455–465.

9. Den Haan J.M., Kraal G. Innate immune functions of macrophage subpopulations in the spleen // J. Innate Immun. 2012. Vol. 4. P. 437–445.

10. Matsuno K., Ueta H., Shu Z. The microstructure of secondary lymphoid organs that support immune cell trafficking // Archives Of Histology And Cytology. 2010. Vol. 73, № 1. P. 1–21.

11. Mebius R.E., Kraal G. Structure and function of the spleen // Nature Reviews Immunology. 2005. Vol. 5. P. 606–616.

12. Silva J.S., Andrade A.C., Santana C.C. Low CXCL13 expression, splenic lymphoid tissue atrophy and germinal center disruption in severe canine visceral // PLoS One. 2012. Vol. 7, № 1. E-location 29103.

13. Steiniger B.S. Human spleen microanatomy: why mice do not suffice // Immunology. 2015. Vol. 145, № 3. P. 334–346.

14. Tarantino G., Savastano S., Capone D. Spleen: A new role for an old player? // World Journal of Gastroenterology. 2011. Vol. 17, № 33. P. 3776–3784.

15. Vasco P.G., Villar Rodríguez J.L., Martínez J.I. Immunohistochemical organization patterns of the follicular dendritic cells, myofibroblasts and macrophages in the human spleen- new considerations on the pathological diagnosis of splenectomy pieces. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2010. Vol. 3, № 2. P. 189–202.

nik. 2013;16(61):265-9. Russian.

5. Moldavskaya AA, Dolin AV. Morfologicheskie kriterii stroeniya selezenki v postnatal'nom ontogeneze [Morphological criteria of spleen structure at postnatal ontogenesis]. Morfologiche-skie vedomosti. 2007;3/4:268-9. Russian.

6. Fedorovskaya NS, D'yakonov DA, Fedorovskaya NA; inventors. Sposob prognozirovaniya techeniya aplasticheskoj anemii posle splenehktomii [A method of predicting the course of aplastic anemia after splenectomy]. Russian Federation patent RU № 2535059; 2014. Russian.

7. CHulkova SV, Stilidi IS, Gluhov EV. Selezenka – perifericheskij organ immunnoj sistemy. Vliyanie splenehktomii na immunnyj status [Spleen is a peripheral organ of the immune system. Effect of splenectomy on immune status]. Vestnik RONC im. N.N. Blohina RAMN. 2014;25(1-2):21-4. Russian.

8. Cesta MF. Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. Toxicologic Pathology. 2006;34:455-65.

9. Den Haan JM, Kraal G. Innate immune functions of macrophage subpopulations in the spleen. J. Innate Immun. 2012;4:437-45.

10. Matsuno K, Ueta H, Shu Z. The microstructure of secondary lymphoid organs that support immune cell trafficking. Archives Of Histology And Cytology. 2010;73(1):1-21.

11. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. Nature Reviews Immunology. 2005;5:606-16.

12. Silva JS, Andrade AC, Santana CC. Low CXCL13 expression, splenic lymphoid tissue atrophy and germinal center disruption in severe canine visceral. PLoS One. 2012;7(1):E-location 29103.

13. Steiniger BS. Human spleen microanatomy: why mice do not suffice. Immunology. 2015;145(3):334-46.

14. Tarantino G, Savastano S, Capone D. Spleen: A new role for an old player?. World Journal of Gastroenterology. 2011;17(33):3776-84.

15. Vasco PG, Villar Rodríguez JL, Martínez JI. Immunohistochemical organization patterns of the follicular dendritic cells, myofibroblasts and macrophages in the human spleen- new considerations on the pathological diagnosis of splenectomy pieces. International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2010;3(2):189-202.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 160–165
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 160–165

УДК: 611.6+59.084:615.37

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ГОНАД ПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ МЕТОТРЕКСАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

С.А. КАЩЕНКО, А.А. ЗАХАРОВ

Государственное Учреждение Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», кв. 50-летия Обороны Луганска, д. 1г, г. Луганск, 91045, Украина, e-mail: masterhist@mail.ru

Аннотация. Исследования последних лет доказали, что наиболее быстро и активно в ответ на изменения внешней и внутренней среды реагируют регуляторные системы организма – нервная, иммунная и эндокринная. Отмечено, что очень часто интенсивное воздействие факторов различной природы приводит к состоянию системной иммуносупрессии разной степени выраженности. Без сомнений, влияние неблагоприятных факторов сказывается и на структуре и функционировании всех систем организма. Однако, зачастую вопросы, связанные с изменениями строения органов, которые, казалось бы, напрямую не связаны с реакцией на иммуносупрессию, остаются без должного внимания исследователей. В связи с этим, **целью** работы явилось изучение влияния острого угнетения иммунной системы на морфоструктуру семенников животных репродуктивного периода. Исследование выполнено на 60 белых крысах репродуктивного периода. Иммуносупрессию моделировали путем применения метотрексата в дозировке 10 мг/м^2 однократно внутримышечно. Органы взвешивали, рассчитывали относительную массу, определяли линейные размеры и объём. Микроморфометрические измерения включали больший и меньший диаметры, площадь извитого семенного канальца, высота и площадь эпителиосперматогенного слоя, индекс сперматогенеза, а также число сустентоцитов и интерстициальных эндокриноцитов и объёмы ядер указанных клеток. Статистически значимое уменьшение всех массовых и линейно-объёмных параметров было установлено на 7, 15 и 30 сутки наблюдения. Микроморфометрические показатели, а также количественные клеточные показатели претерпевали аналогичные изменения в те же сроки. В результате исследования было установлено, что семенники животных репродуктивного возраста проявляют активную реакцию в ответ на применение иммуносупрессивной дозы метотрексата. Статистически значимое снижение морфометрических параметров гонад объясняется фармакокинетическими особенностями препарата и развитием нарушений со стороны транскрипционного аппарата клеток. Реакция со стороны микроморфометрических параметров органа подтверждает изменения на макроскопическом уровне и включает в себя, в том числе, и сдвиги в локальных андрогензависимых механизмах регуляции структуры эпителиосперматогенного слоя. Отсутствие статистически достоверных отличий между исследуемыми показателями семенников животных контрольных и экспериментальных групп на 60 сутки после прекращения введения препаратов свидетельствует о развитии реадаптационных процессов в органе.

Ключевые слова: семенники, метотрексат, иммуносупрессия, крысы.

Актуальность. Как известно, в последние десятилетия происходит интенсивное изменение окружающей среды за счет резкого расширения промышленного производства, в том числе атомного и химического, роста количества отходов, загрязняющих окружающую среду. Все это непосредственно влияет на здоровье населения, наносит огромный ущерб экономике, резко уменьшает трудовые ресурсы, а также потенциально создает канцерогенную и мутагенную опасность не только для здоровья настоящих, но и будущих поколений. Здоровый организм постоянно обеспечивает оптимальное функционирование всех своих систем в ответ на любые изменения окружающей среды. Сохранение оптимальной жизнедеятельности человека при взаимодействии с окружающей средой определяется тем, что для его организма существует определенный физиологический предел выносливости по любому фактору среды и за рубежом пределов этот фактор неизбежно будет оказывать угнетающее влияние на здоровье человека. Неизбежное воздействие на организм оказывает и постоянно расширяющийся спектр применяемых медицинских препаратов для лечения и профилактики разнооб-

разных патологических состояний. Исследования последних лет доказали, что наиболее быстро и активно в ответ на изменения внешней и внутренней среды реагируют регуляторные системы организма – нервная, иммунная и эндокринная [5]. Отмечено, что очень часто интенсивное воздействие факторов различной природы приводит к состоянию системной иммуносупрессии разной степени выраженности [4]. Без сомнений, влияние неблагоприятных факторов сказывается и на структуре и функционировании всех систем организма. Однако, зачастую вопросы, связанные с изменениями строения органов, которые, казалось бы, напрямую не связаны с реакцией на иммуносупрессию, остаются без должного внимания исследователей.

Цель исследования – изучение влияния острого угнетения иммунной системы на морфоструктуру семенников животных репродуктивного периода.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 60 белых крысах репродуктивного периода, полученных из вивария лабораторных животных ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». Иммуносупрессию моделировали путем применения метотрексата в дозировке 10 мг/м^2 однократно внутримышечно. Животные, получавшие аналогичные объемы 0,9% раствора *NaCl* по той же схеме, входили в контрольную группу. Крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом через 1, 7, 15, 30 и 60 суток после прекращения введения препарата. При работе с животными руководствовались Директивой 2010/63/*EU* Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях [2]. Органы взвешивали на торсионных весах, рассчитывали относительную массу, определяли линейные размеры с помощью штангенциркуля: длину, ширину и толщину. По формуле объёма эллипсоида рассчитывали объём органа: $V = \frac{\pi ABC}{6}$, где *A* – длина, *B* – ширина и *C* – толщина.

Семенники подвергались стандартной гистологической проводке, полученные срезы толщиной 4-5 мкм окрашивались гематоксилин-эозином и фотографировались с помощью морфометрического комплекса «*Olympus CX-41*». Микроморфометрические измерения объектов проводили путём анализа полученных цифровых изображений в компьютерной программе АСКОН «Компас-3*D* 17.0», используя калибровочный файл, созданный с помощью фотографий объект-микрометра в аналогичных режимах съёмки. В исследовании использовались только те канальцы, по которым срез прошел перпендикулярно его центральной оси. Измерялись больший и меньший диаметры, площадь канальца, высота и площадь эпителиосперматогенного слоя. Индекс сперматогенеза (I) рассчитывали по формуле: $I = \frac{\Sigma A}{n}$, где *A* – количество рядов сперматогенных клеток, обнаруженных в каждом канальце (1 ряд – сперматогонии, 2 – сперматоциты, 3 – сперматиды, 4 – сперматозоиды); n – количество изученных канальцев [1].

Число сустентоцитов подсчитывалось в 100 срезах извитых семенных канальцев. Устанавливали относительное количество интерстициальных эндокриноцитов, приходящихся на поперечный срез одного канальца. Также определялись объёмы ядер указанных клеток по формуле вытянутого эллипсоида вращения [3, 6].

Полученные данные обрабатывали с использованием лицензионной программы «*StatSoft Statistica v6.0*». Применялись методы параметрической статистики, так как использование критерия Шапиро-Уилка позволило установить нормальное распределение показателей в выборке. Достоверность различий между показателями экспериментальных и контрольных групп определяли с помощью критерия Стьюдента–Фишера с вероятностью ошибки $p<0,05$, допустимой для медико-биологических исследований.

Результаты и их обсуждение. Семенники являются парными органами, что обусловливает необходимость изучения каждого из них. Однако, полученные данные свидетельствуют, что в контрольных и экспериментальных группах достоверных различий между аналогичными параметрами правой и левой гонады установлено не было, поэтому в дальнейшем будут приведены результаты исследования правого органа.

Семенники крысы располагаются в мошонке, непосредственно соединяющейся с брюшной полостью, имеют овальную форму, в каждом различают краниальный и каудальный полюса, медиальную и латеральную поверхности, вентральный и дорсальный края. Снаружи орган покрыт соединительнотканной оболочкой, разделяющей его на дольки, содержащие извитые семенные канальцы, которые расположены в

разных плоскостях. Эпителиосперматогенный слой плотно прилегает к стенке канальца и представлен сустентоцитами, а также рядами предшественников сперматозоидов, находящихся на разных стадиях сперматогенеза. Органометрические показатели семенников крыс контрольных групп подвергались незначительным возрастным изменениям в связи с закономерными процессами их морфогенеза (табл.).

Таблица

Органометрические показатели органов животных контрольных групп репродуктивного периода (*M*±*m*, *n*=30)

Параметры	Сроки наблюдения, сутки				
	1	7	15	30	60
Абсолютная масса, мг	1760,21±62,35	1770,12±33,54	1840,11±34,55	1855,18±41,21	1892,14±45,78
Относительная масса, мг/г	8,35±0,33	8,50±0,11	7,81±0,12	7,89±0,08	8,17±0,27
Длина, мм	29,88±0,87	29,25±0,52	30,35±0,64	30,83±0,71	31,44±0,52
Ширина, мм	11,76±0,46	12,73±0,25	12,86±0,31	14,52±0,22	15,11±0,32
Толщина, мм	12,52±0,24	12,77±0,31	13,51±0,22	14,79±0,18	15,64±0,37
Объём, мм^3	2303,45±95,64	2489,61±48,52	2760,84±66,88	3466,52±46,53	3890,18±112,33

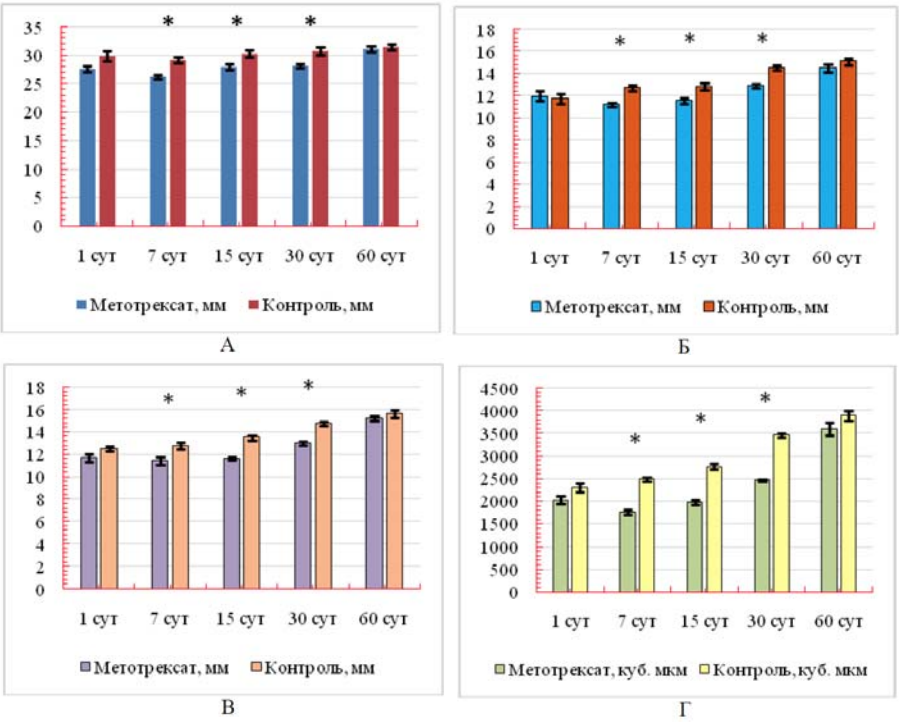


Рис. Изменения длины (А), ширины (Б), толщины (В) и объёма (Г) семенников после применения метотрексата и в контроле. Примечание: и * – статистически значимое отличие от контрольных данных (p<0,05)

После введения метотрексата общий план строения гонад не претерпел существенных изменений, однако были отмечены отклонения макроморфометрических показателей органов. Так, статистически значимое уменьшение абсолютной массы на 13,07, 10,78 и 7,91% было установлено на 7, 15 и 30 сутки наблюдения. Значения относительной массы изменялись аналогично: уменьшение параметров составило 12,46, 7,86 и 4,59% соответственно. Линейные и объёмные параметры органов после применения иммуносупрессора претерпевали сходные изменения. Так, достоверные отклонения были установлены на 7, 15 и 30 сутки (рис.).

После окончания введения метотрексата изменения микроморфометрических параметров гонад наблюдались в аналогичные сроки наблюдения, имея тенденцию к снижению в сравнении с данными контрольных групп крыс.

При иммуносупрессии линейные показатели извитых семенных канальцев достоверно уменьшались относительно контрольных данных. Так, больший и меньший диаметры снижались на 11,58%, 18,31%, 15,35% и 10,57%, 17,16%, 17,19% соответственно 7, 15 и 30 суткам наблюдения. Синхронно уменьшались площади канальца и эпителиосперматогенного слоя – на 9,14%, 12,60%, 11,08% и 11,65%, 13,23%, 16,13% соответственно. Высота последнего, а также индекс сперматогенеза статистически значимо снижались в сравнении с данными контрольных групп животных. Так, на 7, 15 и 30 сутки после прекращения введения иммуносупрессора эти параметры уменьшались на 15,40%, 12,19%, 14,31% и 18,70%, 28,12%, 29,88% соответственно. На 60 день наблюдения, как и на ранних сроках, все исследуемые параметры органа достоверно не отличались от контрольных данных.

Количество сустентоцитов в извитых семенных канальцах гонад крыс контрольной

группы статистически значимо превышало аналогичный показатель у животных после иммуносупрессии на 23,28% (7 сут.), 21,16% (15 сут.) и 18,41% (30 сут.). Также было установлено достоверное снижение объёма ядер клеток в те же сроки наблюдения на 15,29%, 20,06% и 19,85% соответственно.

Сходная динамика параметров интерстициальных эндокриноцитов отмечалась через 7, 15 и 30 суток после прекращения применения метотрексата: так, количество клеток снижалось на 18,53%, 19,94% и 15,75%, объём ядер клеток – на 15,79%, 19,58% и 13,82% соответственно.

Развитие изменений морфометрических параметров семенников свидетельствует об интенсивном ответе со стороны органов на иммуносупрессию. Полученные данные могут быть объяснены непосредственным действием метотрексата на ферментный комплекс, участвующий в синтезе компонентов ДНК, что приводит к нарушениям транскрипционных и трансляционных процессов в клетке [8]. Этот же механизм угнетает регенераторную способность эпителиосперматогенного слоя, что выражается снижением индекса сперматогенеза у животных, получавших иммуносупрессор. *Meyer S.C., Levine R.L.* (2014) в исследованиях доказали способность метотрексата угнетать активность ряда ферментов, участвующих в передаче сигнала от цитокинового комплекса к ядерным генам-мишеням. Это приводит к нарушению их экспрессии, что проявляется снижением митотической активности и синтетических процессов в клетках эпителиосперматогенного слоя [7]. С другой стороны, *Spurlock C.F. III et al.* доказали, что метотрексат обладает способностью активировать фермент семейства митоген-активированных протеинкиназ, что, в свою очередь, приводит к активации генов проапоптоза и увеличивает чувствительность клеток к апоптозу [8]. Данный факт может объяснить снижение количественных показателей извитых семенных канальцев, а также уменьшение числа и ядерных показателей поддерживающих клеток и гландулоцитов. Последний факт также играет роль в изменении морфометрических параметров гонад в связи со снижением андрогензависимой стимуляции сперматогенеза, в котором существенную регуляторную роль играют сустентоциты, создающие специфическое микроокружение для созревающих клеток.

Выводы:

1. Семенники животных репродуктивного возраста проявляют активную реакцию в ответ на применение иммуносупрессивной дозы метотрексата.

2. Статистически значимое снижение морфометрических параметров гонад отмечается на 7, 15 и 30 сутки наблюдения, что объясняется фармакокинетическими особенностями препарата и развитием нарушений со стороны транскрипционного аппарата клеток.

3. Реакция со стороны микроморфометрических параметров органа подтверждает изменения на макроскопическом уровне и включает в себя, в том числе, и сдвиги в локальных андрогензависимых механизмах регуляции структуры эпителиосперматогенного слоя.

4. Отсутствие статистически достоверных отличий между исследуемыми показателями семенников животных контрольных и экспериментальных групп на 60 сутки после прекращения введения препаратов свидетельствует о развитии реадаптационных процессов в органе.

FEATURES OF THE GONAD STRUCTURE OF MATURE ANIMALS UNDER THE CONDITIONS OF METHOTREXATE-INDUCED IMMUNOSUPRESSION

S.A. KASHCHENKO, A.A. ZAKHAROV

SI LPR « St. Luke Lugansk State Medical University», 91045, Lugansk, 50th anniversary of the Defense of Lugansk bl., 1g. E-mail: masterhist@mail.ru

Abstract. Studies of recent years have shown that the most rapid and active in response to changes in the external and internal environment are the regulatory systems of the body - nervous, immune and endocrine. It is noted that very often-intensive exposure to factors of different nature leads to a state of systemic immunosuppression of varying degrees of severity. Without a doubt, the influence of unfavorable factors affects the structure and functioning of all body systems. However, often the issues related to changes in the structure of organs that seemingly are not directly related to the response to immunosuppression remain without due attention of researchers. In this regard, the aim of the work was to study the effect of acute in-

hibition of the immune system on the morphology of the testes of animals of the reproductive period. The study was carried out on 60 white rats of the reproductive period. Immunosuppression was modeled by the use of methotrexate in a dosage of 10 mg/m^2 once intramuscularly. The organs were weighed, the relative mass was calculated, linear dimensions and volume were determined. Micromorphometric measurements included larger and smaller diameters, seminiferous tubule area, height and area of the epitheliospermatogenous layer, spermatogenesis index, as well as the number of sustenocytes and interstitial endocrinocytes and the nuclei volumes of these cells. A statistically significant decrease in all mass and linear-volumetric parameters was established on the 7th, 15th and 30th day of observation. Micromorphometric indices, as well as quantitative cellular indices, underwent similar changes in the same terms. As a result of the study it was found out that testes of animals of reproductive age show an active reaction in response to the use of an immunosuppressive dose of methotrexate. The pharmacokinetic features of the preparation and the development of disorders from the transcriptional apparatus of the cells explain a statistically significant decrease in the morphometric parameters of the gonads. The reaction from the micromorphometric parameters of the organ confirms the changes at the macroscopic level and includes, among other things, shifts in the local androgen-dependent mechanisms of the regulation of the structure of the epitheliospermatogenous layer. The absence of statistically significant differences between the test parameters of the testes of control and experimental animals in the 60 days after the discontinuation of the administration of the preparations indicates the development of the re-adaptation processes in the organ.

Key words: testes, methotrexate, immunosuppression, rats.

Литература

1. Бессалова Е.Ю. Биометрические показатели семенников крыс при парентеральном введении спинномозговой жидкости // Вісник проблем біології та медицини. 2011. №4 (90). С. 195–197.

2. Директива Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях от 2010 г. № 2010/63/EU // НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными». Санкт-Петербург, 2012. 48 с.

3. Дуденкова Н.А., Шубина О.С. Изменения морфофункционального состояния и продуктивности семенных желез белых крыс при воздействии ацетата свинца // Фундаментальные исследования. 2013. №10 (часть 6). С. 1253–1259.

4. Кащенко С.А., Бобрышева И.В. Особенности гистологического строения белой пульпы селезенки крыс в разные периоды постнатального онтогенеза в условиях экспериментальной иммуносупрессии // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2014. №1. С. 51–54.

References

1. Bessalova EYU. Biometricheskie pokazateli semennikov krys pri parenteral'nom vvedenii spinnomozgovoj zhidkosti [Biometric parameters of rat testes with parenteral administration of cerebrospinal fluid]. Visnik problem biologiï ta medicini. 2011;4(90):195-7. Ukraine.

2. Direktiva Evropejskogo Parlamenta i Soveta Evropejskogo Soyuza po ohrane zhivotnyh, ispol'zuemyh v nauchnyh celyah ot 2010 g. № 2010/63/EU. NP «Ob"edinenie specialistov po rabote s laboratornymi zhivotnymi» [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes of 2010. NP " Association of specialists in work with laboratory animals»]. Sankt-Peterburg; 2012. Russian.

3. Dudenkova NA, SHubina OS. Izmeneniya morfofunkcional'nogo sostoyaniya i produktivnosti semennyh zhelez belyh krys pri vozdejstvii acetata svinca [Changes in the morphofunctional state and productivity of the seminal glands of white rats under the influence of lead acetate]. Fundamental'nye issledovaniya. 2013;10(chast' 6):1253-9. Russian.

4. Kashchenko SA, Bobrysheva IV. Osobennosti gistologicheskogo stroeniya beloj pul'py selezenki krys v raznye periody postnatal'nogo ontogeneza v usloviyah ehksperimental'noj immunosupressii [Features of the histological structure of the white pulp of the rat spleen in different periods of postnatal ontogenesis in experimental immunosuppression]. ZHurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2014;1:51-4. Russian.

5. Кащенко С.А., Ерохина В.В. Ультрамикроскопические изменения паращитовидных желез крыс после коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии имунофаном // Український морфологічний альманах. 2014. Т. 12, №1. С. 61–64.

6. Кривецький В.В., Москаленко Р.А., Карпенко Л.І., Закорко І-М. С. Особливості морфофункціонального дослідження ендокринного компоненту сім'яників в умовах експерименту // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2013. Т. 1, №2. С. 149–153.

7. Meyer S.C., Levine R.L. Molecular pathways: molecular basis for sensitivity and resistence to JAK kinase inhibitors // Clin Cancer Res. 2014. №20. P. 2051–2059. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0279.

8. Spurlock C.F. III, Tossberg J.T., Fucgs H.A. Methotrexate increases expression of cell cyclic checkpoint genes via JNK activation // Arthritis Rheum. 2012. №64. P. 1780–1789. DOI:1002/art.34342

5. Kashchenko SA, Erohina VV. Ul'tramikroskopicheskie izmeneniya parashchitovidnyh zhelez krys posle korrekcii ciklofosfan-inducirovannoj immunosupressii imunofanom [Ultramicroscopic changes in the parathyroid glands of rats after correction of cyclophosphane-induced immunosuppression by imunophan]. Ukraïns'kij morfologichnij al'manah. 2014;12(1):61-4. Ukraine.

6. Krivec'kij VV, Moskalenko RA, Karpenko LI, Zakorko I-MS. Osoblivosti morfofunkcional'no-go doslidzhennya endokrinnogo komponentu sim'yanikiv v umovah eksperimentu [Features of morphofunctional study of the endocrine component of the testes under experimental conditions]. ZHurnal klinichnih ta eksperimental'nih medichnih doslidzhen'. 2013;1(2):149-53. Ukraine.

7. Meyer SC, Levine RL. Molecular pathways: molecular basis for sensitivity and resistence to JAK kinase inhibitors. Clin Cancer Res. 2014;20:2051-9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0279.

8. Spurlock CF III, Tossberg JT, Fucgs HA. Methotrexate increases expression of cell cyclic checkpoint genes via JNK activation. Arthritis Rheum. 2012;64:1780-9. DOI:1002/art.34342

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 166–170
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 166–170

УДК: 616-003.93 - 611.748.54

АНАЛИЗ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ЗОН СУХОЖИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА В ФИБРОПЛАСТИЧЕСКУЮ ФАЗУ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

А.В. ИВАНОВ

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Московский просп., 15, Чебоксары, Чувашская Респ., 428010, Россия

Аннотация. В данной научной работе рассмотрены морфофункциональные изменения различных зон сухожильного комплекса в фибропластическую фазу репаративной регенерации после ушивания экспериментального разрыва сухожилия. Эксперимент проведен на 23 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла. Определены особенности инфильтратов, структурных изменений сухожильного волокна и перестройки сосудов микроциркуляторного русла в проксимальной, средней и дистальной части сухожилия. Даны морфологические критерии диагностики вторичных альтеративных изменений. Выявлены количественные и качественные показатели взаимосвязей между реактивными изменениями и формирующимся регенератом. Указаны роли исследуемых зон сухожильного комплекса в процессе заживления ахиллова сухожилия. Таким образом, на 7 сутки раннего послеоперационного периода процессы, представленные в месте послеоперационной раны кожи и подкожножировой клетчатки, являлись завершением стадии контракции послеоперационной раны и соответствовали началу пролиферативной стадии заживления кожи. В проксимальной части сухожильного комплекса превалировали реактивные процессы в виде сосудистых реакций микроциркуляторного русла, миграции форменных элементов крови из микрососудов в эндотенониальное пространство, участвующих в клеточном ответе на развитие воспаления в средней трети сухожилия. Процессы, идущие в средней части сухожильного комплекса, соответствовали экссудативной фазе воспаления и началу фибропластической стадии репарации, причем экссудация более выражена в перитенониальных пространствах. Морфологическая картина формирования регенерата в центральной части не имела органотипичный характер и проходила на фоне выраженных вторичных альтеративных процессов в результате травматического отека тканей, что подтверждалось выявленными закономерностями площадей сухожильных волокон и оптической плотности. Дистальный отдел Ахиллова сухожилия оставался интактным к репаративным процессам.

Ключевые слова: Ахиллово сухожилие, морфометрия сухожилия, регенерация сухожилия, фибропластическая фаза заживления, зоны сухожильного комплекса.

Введение. Проблема оптимизации репаративной регенерации после травмы *Ахиллова сухожилия* (АС) не теряет своей актуальности. Как известно АС имеет индивидуальное зональное кровоснабжение [4,3]. В настоящее время наибольший интерес представляют способы коррекции ангиогенеза фибропластической фазы репарации с целью укорочения срока заживления сухожильного комплекса [5,7]. Многие авторы отмечают снижение прочности АС в зоне недостаточной васкуляризации, где питание в основном идет за счет *микроциркуляторного русла* (МЦР) эпитенона. В ряде работ имеется упоминание о процессах регуляции клеточных популяций при репаративной регенерации после травмы АС [2,6]. В современной литературе практически нет упоминаний о роли различных зон АС в репаративной регенерации сухожильного комплекса.

Цель исследования – сравнение морфофункциональных особенностей сухожильных волокон, сосудистого компонента и воспалительных инфильтратов трех анатомических зон АС на 7 сутки заживления сухожильного комплекса после ушивания экспериментального разрыва сухожилия.

Материалы и методы исследования: Эксперименты выполнены на 23 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла в возрасте 10±2 мес., массой 3,2±0,5 кг. Испытуемые были разделены на две группы: интактная группа животных (n=10) и основная группа животных (n=13). В основной группе животным после проведения экспериментального рассечения сухожилия камбаловидной и икроножной мышцы левой задней конечности на 2 см выше костно-сухожильного контакта, выполняли ушивание сухожилия *X*-образным швом. Ин-

тактная группа животных экспериментальному вмешательству не подвергались. Животные выводились из эксперимента в утренние часы передозировкой наркоза на 7-е сутки. Умерщвленные животные подвергались аутопсийному исследованию. Для исследования проводилось иссечение сухожильного комплекса левой задней конечности с окружающей тканью (сухожильный комплекс). Полученный материал фиксировался в 10% нейтральном формалине, забуференном до *pH* 7,0, причем объем фиксирующей жидкости превышал объем фиксируемого материала в 10 раз. Сухожильный комплекс рассекался срединными разрезами на два продольных фрагмента. Один фрагмент использовался для получения срезов целевых анатомических зон сухожилия поперечного сечения. Второй фрагмент – для получения срезов с продольным сечением целевых зон. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином для гистологического описания стадии целостной картины репаративной регенерации; трехцветным одномоментным методом Касона дифференцировали коллагеновые, ретикулярные и эластические волокна. Изучению подлежали следующие анатомические зоны: проксимальная часть АС, средняя треть сухожильного комплекса, дистальная часть сухожильного комплекса, сухожильное влагалище. В указанных триггерных областях проводили измерения удельных площадей коллагенового волокна, МЦР и воспалительных инфильтратов в перитенониальных и эндотенониальных пространствах сухожильного комплекса по методике Автандилова Г.Г. [1]. Изучение каждого из полученных срезов велось в 10 полях зрения. Морфометрическое исследование выполняли в программе *scope photo* 3.0. В каждом из полей зрения проводили 10 замеров структур сухожилия. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью свободного пакета анализа данных приложения *Apache OpenOffice Calc* версии 4.1.2, а также приложение *SPSS* 17.0. Для проверки результатов количественной оценки использовали двухсторонний биноминальный тест и критерий согласия выборок Хи-квадрат. Сравнительный межгрупповой анализ показателей проводили при помощи *U*-критерия Манна-Уитни. Внутригрупповые и межгрупповые связи описывали при помощи ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение. На 7 сутки послеоперационного периода во фрагментах кожи из краев операционной раны в средней части АС на фоне сформированной области рыхлой соединительной ткани с большим количеством вновь образованных сосудов определялись участки «наползания» поверхностного эпителия на область грануляции. Очаговые воспалительные лимфо-лейкоцитарные инфильтраты в основном располагались в периваскулярных зонах и по краям фрагмента. В дерме умеренно выраженный отек и полнокровие сосудов МЦР, с единичными кровоизлияниями.

В проксимальном отделе сухожильного комплекса со стороны эпитенона отмечалось запустение магистральных сосудов с явлением их перекалибровки и гиперемии сосудов микроциркуляторного русла. Единичные очаговые воспалительные инфильтраты, состоящие из большого количества лимфоцитов, гистиоцитов и нейтрофилов располагались вдоль сухожильных волокон и имели периваскулярный характер. Сухожильные волокна представляли собой мышечно-фиброзные пучки волокон, которые при окраске по методу Касона имели более выраженный эластический компонент. Обращало на себя внимание наличие в пучках мышечно-фиброзного волокна АС второго порядка единичных жировых включений и жировых клеток.

В средней трети АС на 7 день послеоперационного периода при гистологическом исследовании ткань сухожильного комплекса можно условно разделить на две области: зона реактивного воспаления, расположенная преимущественно в области эпитенона с наличием очагов перифокального воспаления вокруг фокусов шовного материала в центральной части сухожильного комплекса и область активного формирования рыхлой соединительной ткани, преимущественно расположенная в глубине сухожильного тяжа. В реактивной области ведущим микроскопическим признаком являлась диффузная густая воспалительная инфильтрация с наличием большого количества лимфоцитов, фибробластов различной степени зрелости и нейтрофилов в тенониальных пространствах. Воспалительные инфильтраты также встречались вокруг фокусов шовного материала. Здесь инфильтраты были представлены нейтрофилами, макрофагами, гистиоцитами с единичными фибробластами и наличием единичных клеток типа инородных тел. На этом фоне отмечалось небольшое количество вновь

образованных сосудов МЦР. Сосуды МЦР резко полнокровные с множественными периваскулярными кровоизлияниями. Сами сухожильные волокна резко отечные, с картиной фибриноидного набухания. Местами коллаген рыхлый, коллагеновые фибриллы имели волнистый, прерывистый вид с формированием единичных участков некроза. Область активного формирования рыхлой соединительной ткани (очаг регенерата) четко отграничена от окружающей ткани, представляет собой компактный участок незрелой рыхлой соединительной ткани с наличием большого количества полнокровных сосудов МЦР, между которыми располагаются густые очаговые инфильтраты с преобладанием в клеточной популяции фибробластов, лимфоцитов и включением единичных нейтрофилов. Единого вектора сухожильных волокон определить в срезах не удалось, участок регенерата представляет собой хаотично направленные тонкие коллагеновые фибриллы с большим количеством расположенных по периферии фибробластов разной степени зрелости местами с картиной краевого лизиса.

В зоне *участков прикрепления связочно-сухожильного компонента сустава* (энтезиса) при микроскопическом исследовании на 7 сутки послеоперационного периода на фоне выраженного отека тенониальных пространств определяются единичные запустелые магистральные сосуды. Просвет их спазмирован. Коллаген сухожильных фибрилл местами с картиной фибриноидного набухания, по периферии фибрилл зрелые фибробласты.

Для определения выраженности альтеративных изменений в таргетных зонах сухожилия была определена площадь сухожильных пучков 2 порядка и оптическая плотность коллагена в этих сухожильных волокнах (табл. 1). В интактной группе средняя оптическая плотность коллагена АС у не оперированных кроликов равнялась 0,97 при стандартном отклонении выборочного среднего 0,02. у.е. Эта величина была принята за относительную норму оптической плотности коллагена сухожильного пучка 2 порядка. При изучении АС в основной группе, во всех трех исследуемых зонах имело место снижение оптической плотности коллагена сухожильных пучков относительно интактной группы. В средней части сухожильного комплекса этот показатель имел наименьшее значение и составил 0,074 у.е. при стандартном отклонении выборочного среднего 0,03. При изучении удельных площадей отмечалось резкое повышение этого показателя в проксимальной зоне АС. Коэффициент корреляции между оптической плотностью и удельной площадью сухожильного пучка проксимальной части ахиллова сухожилия составил 0,55, т.е. имелась сильная положительная связь (p=0,037). В средней части АС коэффициент корреляции между оптической плотностью и удельной площадью сухожильного пучка составил -0,83, т.е. имелась сильная обратная связь (p=0,041). В зоне энтезиса этот показатель составил 0,12, т.е. имелась слабая положительная связь (p=0,026).

Таблица 1

Сравнительная характеристика площадей сухожильных пучков 2 порядка и оптической плотности коллагена в различных зонах ахиллова сухожилия кролика интактной группы и на 7 сутки послеоперационного периода

Таргетные зоны АС	Средняя площадь сухожильного пучка 2 порядка (мкм)		Средняя оптическая плотность коллагена (у.е.)	
	Интактная группа	Основная группа	Интактная группа	Основная группа
Проксимальный отдел	161,93±5,78	168,38±2,61	0,97±0,02	0,089±0,01
Средняя часть		147,02±8,34		0,074±0,03
Энтезис		155,17±6,29		0,081±0,03

С целью выявления качества перекалибровки сосудов МЦР в таргетных зонах сухожилия были определены их суммарные площади (табл. 2). У основной группы АС в проксимальной части на фоне суммарного снижения площади просветов кровеносных капилляров отмечалось увеличение этого показателя в подгруппе сосудов с большим диаметром. В средней части отмечалась тенденция к увеличению суммарной площади МЦР сосудов с диаметром просвета меньше 30 мкм. В области энтезиса сосуды с диаметром просвета более 30 мкм отсутствовали.

Потенциал реактивности и репаративной регенерации определяли при помощи удельных площадей инфильтрата реактивной зоны средней части АС и зоны формирования регенерата. На 7 сутки послеоперационного периода средняя удельная площадь инфильтрата составила 3793,19 при стандартном отклонении выборочного среднего 277,56. Площадь зоны формирующегося регенерата составила 7355,16±486,72, при этом на долю формирующегося регенерата пришлось 34,87±1,3% всей

поверхности изученных срезов средней части АС. Коэффициент корреляции между средней площадью инфильтратов и регенератов в средней части составил -0,34, т.е. имелась средняя обратная связь (p=0,028).

Таблица 2

Сравнительная характеристика суммарных площадей сосудов МЦР в различных зонах ахиллова сухожилия кролика интактной группы животных и на 7 сутки послеоперационного периода

Сосуды МЦР	Проксимальная часть		Средняя часть		Энтезис	
	интактная	основная	интактная	основная	интактная	основная
кровеносные капилляры (5-12 мкм)	340,01±13,61	337,75±18,42	281,94±6,15	379,75±22,15	323,56±3,42	64,39±15,6
Посткапиллярные венулы (12-30 мкм)	634,47±22,9	793,06±14,17	398,62±19,63	435,39±10,08	314,53±7,13	653,53±21,31
Собирательные венулы (30-50 мкм)	441,28±9,7	429,19±0,52	440,55±9,42	630,9±14,76	-	-
артериолы и мышечные венулы (50-100 мкм)	1202,66±38,2	1450,42±21,88	1274,7±62,8	758,56±2,71	-	-

Выводы: Процессы, представленные в месте послеоперационной раны кожи и подкожножировой клетчатки, являлись завершением стадии контракции послеоперационной раны и соответствовали началу пролиферативной стадии заживления кожи. В проксимальной части сухожильного комплекса превалировали реактивные процессы в виде сосудистых реакций микроциркуляторного русла, миграции форменных элементов крови из микрососудов в эндотенониальное пространство, участвующих в клеточном ответе на развитие воспаления в средней трети АС. Процессы, идущие в средней части сухожильного комплекса, соответствовали экссудативной фазе воспаления и началу фибропластической стадии репарации, причем экссудация более выражена в перитенониальных пространствах. Морфологическая картина вания регенерата в центральной части изучаемой области на этом сроке живления не имела органотипичный характер и проходила на фоне выраженных вторичных альтеративных процессов в результате травматического отека тканей, что ждалось выявленными закономерностями площадей сухожильных волокон и оптической плотности. Дистальный отдел АС оставался интактным к репаративным процессам, в этой области сухожильного комплекса отмечались исключительно признаки дистрофических изменений сухожильных волокон и нарушения кровообращения.

ANALYSIS OF MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF DIFFERENT ZONES OF THE TENDON COMPLEX IN THE FIBROPLASTIC PHASE OF REPARATIVE REGENERATION

A.V. IVANOV

"Chuvash State I.N. Ulyanov University", Moskovky Ave., 15, Cheboksary, Chuvash Rep., 428010, Russia

Abstract. In this research we consider the morphofunctional changes of different zones of the tendon complex in the fibroplastic phase of reparative regeneration after suturing the experimental tendon rupture. The experiment was carried out on 23 mature male rabbits of chinchilla breed. The features of infiltrates, structural changes of the tendon fiber and restructuring of the vessels of the microcirculatory bed in the proximal, middle and distal part of the tendon are determined. The morphological criteria for the diagnosis of secondary alterative changes on the 7th day of reparative regeneration of tendons are given. The quantitative and qualitative indicators of interrelations between reactive changes and the emerging regenerate are revealed. The roles of the studied zones of the tendon complex in the process of healing of the Achilles tendon are indicated. Thus, on the 7th day of the early postoperative period, the processes presented at the site of the postoperative wound of the skin and subcutaneous tissue were the completion of the stage of postoperative wound contraction and corresponded to the beginning of the proliferative stage of skin healing. In the proximal part of the tendon of the complex was dominated by reactive processes in the form of vascular reactions of the microvasculature, migration of blood cells from the microvasculature in endotelialna space

involved in the cellular response to the development of inflammation in the middle third of the tendon. The processes taking place in the middle part of the tendon complex, consistent with the exudative phase of inflammation and the early stages fibroplastic reparations, and exudation are more pronounced in peritonealny spaces. Morphological picture of the formation of the regenerate in the central part had organotypical in nature and took place against the background of pronounced secondary alterative processes as a result of the traumatic edema of tissues, which was confirmed by the revealed regularities of the areas of tendon fibers and optical density. The distal section of the Achilles tendon remained intact to the reparative processes.

Key words: Achilles tendon, tendon morphometry, tendon regeneration, fibroplastic healing phase, tendon complex zones.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 2007.

2. Банин В.В. Роль перицитов в механизме новообразования сосудов регенерирующей соединительной ткани // Морфология. 2004. Т. 125, № 1. С. 45–50.

3. Казакова И.А. Механизмы влияния макрофагов на репаративную регенерацию: автореф. дис. … д-ра биол. наук. Екатеринбург, 2007. 24 с.

4. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. М.: Медицина, 1996. 208 с.

5. Ackermann P.W. Neuronal regulation of tendon homoeostasis // International journal of experimental pathology. 2013. Vol. 94, N4. P. 271–286.

6. Lui P.P.Y., Peng Z., Chan K.M., Qin L. Biology and augmentation of tendon-bone insertion repair // J Orthop Surg Res. 2010. Vol. 5, N1. P. 1–7.

7. Zantop T., Tillmann B., Petersen W. Quantitative assessment of blood vessels of the human Achilles tendon: an immunohistochemical cadaver study // Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery. 2003. Vol. 123, N9. P. 501–504.

References

1. Avtandilov GG. Medicinskaya morfometriya [Medical morphometry]. Moscow: Medicina; 2007. Russain.

2. Banin VV. Rol' pericitov v mekhanizme novoobrazovaniya sosudov regeneriruyushchej soedinitel'noj tkani [The role of pericytes in the mechanism of vascular neoplasm of regenerating connective tissue]. Morfologiya. 2004;125(1):45-50. Russian.

3. Kazakova IA. Mekhanizmy vliyaniya makrofagov na reparativnuyu regeneraciyu [Mechanisms of macrophage influence on reparative regeneration] [dissertation]. Yekaterinburg; 2007. Russian.

4. Lavrishcheva GI, Onoprienko GA. Morfologicheskie i klinicheskie aspekty reparativnoj regeneracii opornyh organov i tkanej [Morphological and clinical aspects of reparative regeneration of supporting organs and tissues]. Moscow: Medicina; 1996. Russian.

5. Ackermann PW. Neuronal regulation of tendon homoeostasis. International journal of experimental pathology. 2013;94(4):271-86.

6. Lui PPY, Peng Z, Chan KM, Qin L. Biology and augmentation of tendon-bone insertion repair. J Orthop Surg Res. 2010;5(1):1-7.

7. Zantop T, Tillmann B, Petersen W. Quantitative assessment of blood vessels of the human Achilles tendon: an immunohistochemical cadaver study. Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery. 2003;123(9):501-4.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 171–176
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 171–176

УДК: 616.001.6:537.5

ОЦЕНКА МОДИФИКАЦИИ ЭФФЕКТОВ γ-ИЗЛУЧЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

С.Н. ЗОЛОТАРЕВА, В.В. ЛОГАЧЕВА

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, кафедра гистологии, ул. Студенческая д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия, тел.: +7 (4732) 53-02-93, e-mail: z.vorontsova@mail.ru

Аннотация. В последние годы вновь набирает актуальность проблема контакта человека с воздействием γ - облучения, обусловленная учащением техногенных аварий, ядерными испытаниями и накоплением радиоактивных отходов. Основной задачей современных радиобиологов является разработка системы мероприятий направленных на повышение резистентности организма к действию радиации за счет активизации внутренних адаптивных механизмов. В условиях эксперимента проведенного на белых беспородных половозрелых крысах – самцах с начальным возрастом четыре месяца исследовали модифицирующее влияние гипоксической газовой смеси и электромагнитного излучения на эффекты γ - облучения при их раздельном и комплексном применении по соотношению основных морфологических критериев слизистой оболочки тощей кишки. Приоритетность применения модификаторов рассматривали на основе морфофункциональных изменений в слизистой оболочке тощей кишки, математического прогнозирования и корреляционной адаптометрии. По результатам исследования выявлены морфологические признаки развития компенсаторно-приспособительных реакций слизистой оболочки тощей кишки с участием тучных и митотических клеток в условиях применения гипоксической газовой смеси и электромагнитного излучения, соответственно. При комплексном применении факторов модифицирующий эффект суммировался, способствуя повышению радиорезистентности и развитию общего адаптационного синдрома.

Ключевые слова: тощая кишка, γ-излучение, электромагнитное излучение, гипоксическая газовая смесь, модификация.

Актуальность. Ведущие радиобиологи современности, в последние несколько лет основной проблемой в своей отрасли исследований называют радиоактивное загрязнение окружающей среды вследствие техногенных аварий, ядерных испытаний и неконтролируемого в ряде случаев накопления радиоактивных отходов. В связи с этим сформулирована основная задача, поставленная перед радиобиологическим сообществом – это «изыскание различных средств защиты организма от ионизирующего излучения» с акцентом на дозы, определяющие высокий процент летальности [3,8]. Важную роль в оценке развития радиационного поражения и прогнозирования его течения играет резистентность организма и его адаптивные возможности. При этом корректность проведения предупреждающих мероприятий будет определяющей основой в исходе радиационного поражения и стимуляции обратимости процессов [2,7,8]. Опираясь на литературные данные, и собственные исследования установлено, что второй «критической» системой после органов кроветворения, определяющей течение лучевого поражения при действии летальных доз ионизирующего излучения является кишечный эпителий. Именно поражение слизистой оболочки тонкого кишечника, нарушение его барьерных свойств, сопровождающихся гибелью энтероцитов, обезвоживанием и потерей электролитов, а как следствие развитием бактериальной инфильтрации и всасыванием из кишечника токсических метаболитов, определяет гибель организма в ранние сроки после воздействия радиации (3-5 сутки) [7,9]. Также достоверно установлена зависимость развития морфофункциональных сосудистых и стромальных реакций слизистой тонкой кишки на радиационное воздействие высвобождением биогенных аминов клетками микроокружения и диффузной эндокринной системы [2,5,7,9]. Опираясь на вышеизложенные данные актуальным становится рассмотрение модифицирующего влияния естественных радиопротекторов на проявления ионизирующего излучения по состоянию морфофункциональных компонентов слизистой оболочки тощей кишки. Основными критериями оценки радиорезистентности органа в условиях модификации целесообразно считать: митотические клетки,

как показатель степени целостности и восстановительной способности кишечного эпителия, и активные формы тучных клеток – как компоненты местной инкреторной системы органа, определяющей состояние гомеостатического равновесия за счет высвобождения биогенных аминов разного спектра действия [1,4,6].

Цель исследования – выявить модифицирующий эффект факторов радиационной и нерадиационной природы при их раздельном и комплексном применении по морфологическим критериям, определяющим функциональное состояние слизистой оболочки тощей кишки.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на 126 половозрелых беспородных лабораторных крысах-самцах с начальным возрастом 4 месяца. Животные были распределены на 5 экспериментальных групп. Первую группу составили контрольные крысы. Крыс второй группы подвергали однократному воздействию общего γ-излучения в поглощенной дозе 10 Гр на установке «Хизотрон», с мощностью радиационного воздействия 0,86 Гр/мин. Крыс третьей, четвертой и пятой экспериментальных групп подвергали сочетанному или комбинированному воздействию ионизирующего излучения с гипоксической газовой смесью (8% O_2 и 92% N_2 – ГГС-8) или/и низкочастотным электромагнитным излучением (установка «Хазар 2,5 Р», частота 2,4 ГГц, и плотностью потока мощности 10 мВт/см^2 на протяжении 2,5 мин) – данный вид электромагнитного излучения по гигиенической классификации относится к СВЧ-диапазону, при этом γ-облучение крыс проводилось сразу после применения гипоксической газовой смеси и через 12-15мин после электромагнитного излучения. Забой экспериментальных и контрольной групп крыс проводился в зимний период в одно и то же время суток через 1,7; 5; 24; 72 часа после воздействия факторов с разрешения этической комиссии. Животных умерщвляли декапитацией.

Для исследования морфологических критериев слизистой оболочки тощей кишки проводили ее фиксацию в растворе Беккера. После соответствующей проводки на стандартных срединных парафиновых срезах толщиной 6 мкм окрашенных гематоксилином-эозином изучали рельеф слизистой оболочки. Толщину базальной мембраны эпителиальной выстилки слизистой оболочки тощей кишки и бокаловидные клетки выявляли ШИК-реакцией на гликопротеиды. Измерение высоты ворсинок, глубины крипт и толщины базальной мембраны проводили с помощью окуляр-микрометра. Скорость пролиферативных процессов оценивали, подсчитывая митотически делящиеся клетки (×1000) эпителия крипт. В межкриптальной строме при окраске основным коричневым по Шубичу с докраской гематоксилином подсчитывали общее число тучных клеток (×1000) и их морфофункциональных типов: активных форм – дегранулированных и вакуолизированных и недегранулированных – покоящихся. Статистическую обработку результатов исследования проводили на ПЭВМ *Pentium* III-500, с помощью пакетов программ *Excel* 2007, *SPSS for Windows* с использованием параметрических критериев. Для оценки степени развития адаптационных механизмов и приближения системы к гомеостатическому равновесию в условиях модификации использовали метод корреляционной адаптометрии.

Результаты и их обсуждение. Применение однократного изолированного γ-облучения в дозе 10 Гр вызывало выраженные деструктивные изменения морфологических эквивалентов системы «ворсинка-крипта». Выявлено истончение слизистой оболочки за счет достоверного снижения высоты ворсин и глубины крипт в хронодинамике наблюдения. Ворсинки деформированы и имеют вид барабанных палочек – с узким основанием и широкой верхушкой, крипты сужены. Энтероциты эпителиальной выстилки крипт, нижней и средней части ворсинок уплощенной формы, с единичными участками полного «облысения». Верхушки ворсинок покрыты высокими энтероцитами с деформированным ядром и множественными вакуолями в цитоплазме. Бокаловидные клетки эпителиальной выстилки единичные, суженные и опустошенные. В эпителии крипт число митотических клеток снижено до критического уровня (p<0,05) (рис. 1.). Базальная мембрана эпителиоцитов достоверно истончена на протяжении всех сроков наблюдения. Выявлено общее снижение площади стромального соединительнотканного компонента слизистой оболочки, на фоне расширения сосудистого компонента и его кровенаполнения. Общее число тучных клеток соединительнотканной стромы снижено в сравнении с контролем в 5,6–8,3 раза в динамике наблюдения. Среди морфофункциональных типов тучных клеток преоб-

ладают недегранулированные формы, при этом дегрануляция достоверно снижена по всем срокам наблюдения, а лизис превышает контрольные значения (p<0,05) (рис. 1). Также в строме было выявлено повышение числа плазматических клеток и участки лимфоидной инфильтрации, затрагивающие эпителиальные структуры. Таким образом, при дозе γ-облучения 10 Гр констатирована полная несостоятельность адаптивных и компенсаторно-приспособительных механизмов слизистой оболочки тощей кишки, что соответствует литературным данными о клинической картине лучевого поражения.

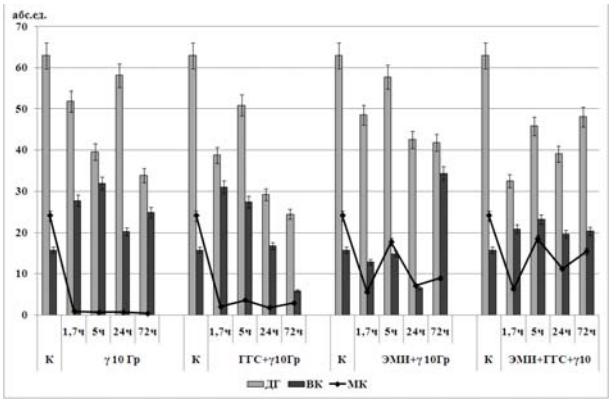


Рис. 1. Динамика морфологических эквивалентов слизистой оболочки тощей кишки в условиях эксперимента. Примечание: К – контроль, ДГ – дегранулированные тучные клетки, ВК – вакуолизированные тучные клетки, МК – митотические клетки

Сочетанное применение электромагнитного излучения СВЧ-диапазона и γ-облучения в дозе 10 Гр вызывало истончение слизистой оболочки тощей кишки за счет снижения высоты ворсинок и глубины крипт. Ворсинки утолщенные (отечные), крипты расширены. Выявлена неоднородность изменений эпителиальной выстилки слизистой оболочки тощей кишки во временной динамике наблюдения. В первые часы (1,7 и 5 час) после предшествующего применения электромагнитного излучения энтероциты правильной призматической формы, бакаловидные клетки расширены и заполнены слизистым секретом, к началу первых суток энтероциты крипт уплощенные, с отсутствием бокаловидных клеток, клеточный состав и форма эпителиальной выстилки ворсинок не проявляла достоверных изменений. К концу третьих суток наблюдения в криптах выявлены энтероциты кубической формы, множественные бакаловидные клетки заполненные секретом. Эпителиоциты нижней и средней части ворсинок призматической формы с правильным ядром, количество бокаловидных клеток умеренное, на верхушках ворсинок среди морфологически неизменных клеток встречаются единичные с вакуолизированной цитоплазмой и деформированным ядром. Целостность эпителиальной выстилки слизистой оболочки тощей кишки на всем срокам наблюдения не нарушена. Число митотических клеток крипт достоверно снижено по всем срокам наблюдения (рис. 1). Базальная мембрана достоверно истончена в сравнении с контрольными значениями. В соединительнотканной строме слизистой оболочки тощей кишки наблюдалось незначительное расширение микроциркуляторного русла на протяжении первых суток и усиление кровенаполнения к последнему сроку наблюдения. Содержание тучных клеток соединительнотканной стромы снижалось во временной динамике эксперимента. Было выявлено достоверно снижение числа дегранулированных форм, недегранулированные напротив повышались, число вакуолизированных тучных клеток достоверно снижалось на протяжении первых суток, а к концу третьих суток превышало контрольные значения в несколько раз (рис. 1). Таким образом, модифицирующий эффект электромагнитного излучения проявлялся повышением числа митотических клеток крипт в сравнении с однократным γ-облучением, утолщением слизистой оболочки и ее эпителиальной выстилки, а также за счет компенсаторно-приспособительных механизмов, реализуемых тучными клетками.

Комбинированное применение γ-облучения и гипоксической газовой смеси вызывало снижение высоты ворсинок и глубины крипт в хронодинамике эксперимента. Форма ворсинок и крипт неизменная, форма энтероцитов призматическая, только на верхушках ворсинок встречаются единичные клетки с вакуолизированной цитоплазмой, увеличено число бокаловидных клеток заполненных секретом. Число митотических клеток крипт достоверно снижено в хронодинамике наблюдения (рис.1). Сосуды микроциркуляторного русла апикальной части ворсинок расширены и кровенаполнены. К концу третьих суток наблюдения выявлена незначительная лимфоцитарная инфильтрация в отдельных участках ворсинок. Общее число тучных клеток достоверно снижено в хронодинамике наблюдения. Среди морфофункциональных типов

тучных клеток наблюдалось достоверное преобладание недегранулированных клеток, среди активных форм на протяжении первых суток лизис преобладал над дегрануляцией, а к концу третьих суток наблюдалось резкое снижение числа вакуолизированных клеток по отношению к контролю (рис. 1). Модифицирующий эффект гипоксической газовой смеси проявлялся в повышении высоты ворсинок и глубины крипт, восстановлении высоты энтероцитов слизистой оболочки на фоне усиления пролиферативной активности эпителиоцитов крипт по отношению к изолированному воздействию γ-облучения.

В условиях комплексного применения модификаторов и γ-облучения выявлено истончение слизистой оболочки тощей кишки за счет достоверного снижения высоты ворсинок и глубины крипт. Ворсинки незначительно расширены в апикальной части. Эпителиоциты крипт кубической формы с округлым ядром. Ворсинки в нижней и средней части покрыты кубическим эпителием, на верхушке наблюдались призматические эпителиоциты, как правильной призматической формы, так и с вакуолизированной цитоплазмой и выбухающими ядрами. Толщина бальной мембраны достоверно снижена в сравнении с контролем. Целостность базальной мембраны и эпителиальной выстилки не нарушена. В криптах выявлена достоверная митотическая активность, количественно сниженная относительно контрольных значений (рис. 1). В соединительнотканной строме слизистой оболочки незначительное расширение микроциркуляторного русла и его кровенаполнение. На фоне общего снижения числа тучных клеток, было выявлено уменьшение количества дегранулированных форм с достоверной тенденцией к восстановлению к концу третьих суток эксперимента, вакуолизированные формы были достоверно повышены, но проявляли противоположную тенденцию к последнему сроку наблюдения (рис. 1). Модифицирующий эффект при комплексном применении электромагнитного излучения и гипоксической газовой смеси проявлялся тенденцией к активизации адаптивных механизмов, выражавшихся в перераспределении способа выведения биологически активных веществ тучными клетками, а также восстановлением слизистой оболочки тощей кишки в сравнении с однократным изолированным γ-облучением за счет частичного восстановления высоты ворсинок и глубины крипт. О предпосылках к восстановлению гомеостатических процессов также свидетельствует повышение числа митотических клеток и толщины базальной мембраны.

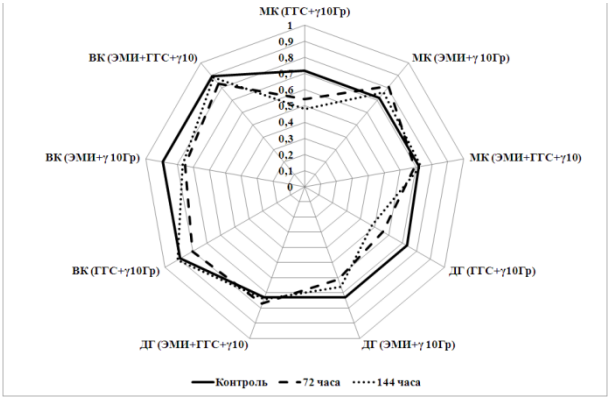


Рис. 2. Модель корреляционной адаптометрии по основным морфофункциональным критериям слизистой оболочки тощей кишки в условиях эксперимента с учетом прогноза. Примечание: ДГ – дегранулированные тучные клетки, ВК – вакуолизированные тучные клетки, МК – митотические клетки

Расчет показателей корреляционной адаптометрии проводился по числу митотических клеток крипт, количеству дегранулированных и вакуолизированных тучных клеток соединительнотканной стромы слизистой оболочки тощей кишки. Временные параметры, учитываемые при построении модели: 72 часа – конечный срок наблюдения в условиях эксперимента, 144 часа – прогнозируемый на основании уравнения линейной регрессии срок, позволяющий косвенно оценить развитие картины модификации радиационного поражения. Так из рис. 2 видно, что для показателя числа митотических клеток крипт, более выраженный эффект адаптации просматривается в условиях комплексного действия факторов как в условиях эксперимента, так и в прогнозе. При раздельном действии модификаторов сходная тенденция выявлена для эффектов электромагнитного излучения.

Для показателя дегранулированных тучных клеток тенденция приближения к гомеостатическому равновесию выявлена в условиях модификации электромагнитным излучением, с большей выраженностью в прогнозе. Достоверное приближение к уровню гомеостатического равновесия по показателю дегранулированных тучных клеток констатировано в условиях комплексного действия факторов по всем срокам после воздействия. Для вакуолизиро-

ванных тучных клеток приближение к гомеостатическому равновесию более выражен в условиях модификации гипоксической газовой смесью и при комплексном воздействии факторов. При этом в первом случае более четкий эффект наблюдается на сроках прогноза, а во втором как в прогнозе, так и в условиях эксперимента. Таким образом, модель корреляционной адаптометрии показала разнородность реакций основных морфофункциональных компонентов слизистой оболочки тощей кишки в направлении развития компенсаторно-приспособительных механизмов и их достоверную синхронизацию при комплексном применении модификаторов.

Выводы. На основании морфометрического анализа и математического моделирования установлена приоритетность комплексного применения гипоксической газовой смеси и электромагнитного излучения СВЧ – диапазона как модификаторов эффектов γ-облучения, с предпосылкой к развитию компенсаторно-приспособительных реакций и общего адаптационного синдрома в условиях эксперимента.

ASSESSMENT OF MODIFICATION EFFECTS γ-RADIATIONS IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

S.N. ZOLOTAREVA, V.V. LOGACHEVA

Voronezh State N.N. Burdenko Medical University, Department of histology,
Studencheskaya Str., 10, Voronezh, 394036, Russia, phone: +7 (4732)53-02-93, e-mail: z.vorontsova@mail.ru

Abstract. In recent years again gains relevance a problem of contact of the person with influence γ - radiations, caused by increase of technogenic accidents, nuclear tests and accumulation of radioactive waste. The main objective of modern radio biologists is development of the system of actions of the internal adaptive mechanisms directed to increase in resistance of an organism to action of radiation due to activization. Under the conditions of the experiment conducted on white outbred mature male rats with an initial age of four months, the authors investigated the modifying effect of the hypoxic gas mixture and electromagnetic radiation on the effects of gamma irradiation in their separate and complex application according to the correlation of the basic morphological criteria of the jejunal mucosa. The authors considered the priority of using modifiers on the basis of morphofunctional changes in the jejunal mucosa, mathematical prediction and correlation adaptometry. Based on the results of the study, morphological signs of the development of compensatory-adaptive reactions of the jejunal mucosa with the participation of fat and mitotic cells under hypoxic gas mixture and electromagnetic radiation, respectively, were revealed. With complex application of the factors, the modifying effect was summed up, contributing to an increase in radioresistance and the development of a general adaptation syndrome.

Key words: jejunum, γ-radiation, electromagnetic radiation, hypoxemic gas mix, modification.

Литература

1. Антонишкис Ю.А., Хадарцев А.А., Несмеянов А.А. Радиационная гематология в системе контроля состояния здоровья моряков (Гематологическая диагностика донозологических состояний и острой лучевой болезни). Тула – Санкт-Петербург, 2013. 304 с.

2. Арташян О.С., Юшков Б.Г., Храмцова Ю.С. Морфологические аспекты участия тучных клеток в формировании общего адаптационного синдрома // Таврический медико-биологический вестник. 2012. Т. 15, №3-1. С. 22–25.

References

1. Antonishkis YUA, KHadarcev AA, Nesmeyanov AA. Radiacionnaya gematologiya v sisteme kontrolya sostoyaniya zdorov'ya moryakov (Gematologicheskaya diagnostika donozologicheskikh sostoyanij i ostroj luchevoj bolezni) [Radiation Hematology in the system of health control of seafarers (Hematological diagnosis of prenosological conditions and acute radiation sickness)]. Tula – Sankt-Peterburg; 2013. Russian.

2. Artashyan OS, YUshkov BG, KHramcova YUS. Morfologicheskie aspekty uchastiya tuchnykh kletok v formirovanii obshchego adaptacionnogo sindroma [Morphological aspects of the participation of mast cells in the formation of the General adaptation syndrome]. Tavricheskij mediko-biologicheskij vestnik. 2012;15(3-1):22-5. Russian.

3. Владимиров С.Н., Скорик А.С. Современные проблемы радиобиологии // Международный журнал экспериментального образования. 2014. №8-3. С. 63–64.

4. Воронцова З.А., Дедов В.И., Есауленко И.Э., Ушаков И.Б., Хадарцев А.А. Системный анализ морфо-функциональных изменений в щитовидной железе при воздействии электромагнитного излучения низкой интенсивности: Монография. Тула: «Тульский полиграфист», 2004. 228 с.

5. Воронцова З.А., Золотарева С.Н., Дедов В.И. Модифицирующие эффекты комбинированных и сочетанных действий // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 17, № 2. С. 171–175.

6. Воронцова З.А., Ушаков И.Б., Хадарцев А.А., Есауленко И.Э., Гонтарев С.Н. Морфофункциональные соотношения при воздействии импульсных электромагнитных полей / Под ред. И.Б. Ушакова. Тула: Изд-во ТулГУ – Белгород: ЗАО «Белгородская областная типография», 2012. 368 с.

7. Воронцова З.А., Черкасова Ю.Б., Золотарева С.Н. Морфолого-статистическая характеристика взаимодействия периферических эндокринных желез в экспериментальной модели отдаленных последствий γ-облучения // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-22. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4797.pdf (дата обращения: 30.04.2014). DOI: 10.12737/3867.

8. Гудков И.Н., Кудяшева А.Г., Москалёв А.А. Радиобиология с основами радиоэкологии. Сыктывкар: Изд-во СЫКТГУ, 2015. 512 с.

9. Золотарева С.Н., Кособуцкая С.А., Шишкина В.В. Эффекты модификации γ- облучения измененной газовой средой в морфологических проявлениях // Журнал анатомии и гистопатологии. 2015. Т. 4, № 3. С. 54–55.

3. Vladimirov SN, Skorik AS. Sovremennye problemy radiobiologii [Modern problems of radiobiology]. Mezhdunarodnyj zhurnal ehksperimental'nogo obrazovaniya. 2014;8-3:63-4. Russian.

4. Voroncova ZA, Dedov VI, Esaulenko IEH, Ushakov IB, KHadarcev AA. Sistemnyj analiz morfofunkcional'nykh izmenenij v shchitovidnoj zheleze pri vozdejstvii ehlektromagnitnogo izlucheniya nizkoj intensivnosti: Monografiya [System analysis of morpho-functional changes in the thyroid gland under the influence of low-intensity electromagnetic radiation: Monograph]. Tula: «Tul'skij poligrafist»; 2004. Russian.

5. Voroncova ZA, Zolotareva SN, Dedov VI. Modificiruyushchie ehffekty kombinirovannykh i sochetannykh dejstvij [Modifying effects combined and interactioned actions]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. 2010;17(2):171-5. Russian.

6. Voroncova ZA, Ushakov IB, KHadarcev AA, Esaulenko IEH, Gontarev SN. Morfofunkcional'nye sootnosheniya pri vozdejstvii impul'snykh ehlektromagnitnykh polej. Pod red. I.B. Ushakova [Morphofunctional relations under the influence of pulsed electromagnetic fields. Under the ed. I. B. Ushakov]. Tula: Izd-vo TulGU – Belgorod: ZAO «Belgorodskaya oblastnaya tipografiya»; 2012. Russian.

7. Voroncova ZA, CHerkasova YUB, Zolotareva SN. Morfologo-statisticheskaya kharakteristika vzaimodejstviya perifericheskikh ehndokrinnykh zhelez v ehksperimental'noj modeli otdalennykh posled-stvij γ-oblucheniya [Morfological and statistical characteristics of interaction of peripheral endo-crine glands in experimental model of remote consequences γ-irradiation]. Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij. EHlektronnoe izdanie [internet]. 2014[cited 2014 Apr 30];1[about 4 p.]. Russian. Available from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4797.pdf. DOI: 10.12737/3867.

8. Gudkov IN, Kudyasheva AG, Moskalyov AA. Radiobiologiya s osnovami radioehkologii [Radiobiology with the basics of radioecology]. Syktyvkar: Izd-vo SYKTGU; 2015. Russian.

9. Zolotareva SN, Kosobuckaya SA, SHishkina VV. EHffekty modifikacii γ- oblucheniya izmenennoj gazovoj sredoj v morfologicheskikh proyavleniyakh [Effects of modification of γ-irradiation by a modified gas medium in morphological manifestations]. ZHurnal anatomii i gistopatologii. 2015;4(3):54-5. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 177–181
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 177–181

УДК: 611.81+616-091.8+577

АНАЛИЗ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ПРОТОНАМИ В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД

И.А. КОЛЕСНИКОВА[*,**], Н.Н. БУДЕННАЯ[*,**], Ю.С. СЕВЕРЮХИН[*,**], К.Н.ЛЯХОВА[*,**], Д.М. УТИНА[*,**]

[*]*Объединенный институт ядерных исследований,*
ул. Жолио-Кюри, д. 6, Дубна, Московская область, 161980, Россия
[**]*Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Университет «Дубна», ул. Университетская, д. 19, Дубна, Московская область, 141982, Россия,*
e-mail: innakolesnikova@jinr.ru

Аннотация. Изучение биологических эффектов воздействия ионизирующих излучений на организм в различные периоды после облучения является важным направлением для решения задач космической биологии. Кроме того, рост популярности применения протонной терапии для лечения онкологических заболеваний в различных отделах мозга делает актуальным анализ и прогнозирование постлучевых поражений центральной нервной системы. В данной работе проведен анализ морфологических изменений в различных структурах головного мозга крыс, оценены возможные нарушения поведенческих реакций после облучения протонами. Эксперимент был проведен на самцах крыс линии *Sprague Dawley*, возраста 6,5-7,5 недель. Животные были подвергнуты облучению протонами в кранио-каудальном направлении в дозе 1Гр с энергией 171МэВ на выведенном протонном пучке Фазотрона ОИЯИ. Изучение поведенческих реакций было выполнено на установке «Открытое поле» (ООО «НПК Открытая наука»). Декапитация животных и извлечение биологического материала для морфологического исследования центральной нервной системы проводились на 30 и 90 сутки после облучения. Был проведен количественный анализ разреженности клеток Пуркинье в мозжечке, а также морфологических изменений нейронов гиппокампа. В работе была выявлена динамика развития структурных изменений нейронов после облучения протонами в различные сроки после воздействия. По результатам морфологического анализа было выявлено статистически значимое снижение плотности клеток Пуркинье на 30 стуки у облученных животных. Количество нейронов гиппокампа с морфофункциональными изменениями у облученных животных статистически значимо превышало число клеток с теми же изменениями у контрольной группы как на 30, так и на 90 сутки после облучения. Количество клеток без видимых морфологических изменений в контроле больше, чем у облученных крыс.

Ключевые слова: протоны, ионизирующее излучение, нейроны, гиппокамп, мозжечок, крысы.

Введение. Среди факторов, представляющих высокую опасность при осуществлении пилотируемых полётов в дальний космос, является космическая радиация. При анализе радиобиологических эффектов космической радиации следует иметь в виду наличие в составе *солнечных космических лучей* (СКЛ) протонов различных энергий. При увеличении солнечной активности и появлении «солнечных вспышек», а так же при проведении членами экипажа космического корабля работ в открытом космосе радиационная нагрузка на космонавтов может существенно увеличиваться. Это обстоятельство может привести к появлению синдромов, принципиально отличных от тех, которые наблюдаются при действии редкоионизирующих излучений. Прежде всего, необходимо иметь в виду возможное формирование нарушений со стороны *центральной нервной системы* (ЦНС), которые могут вызвать нарушения операторской деятельности экипажа непосредственно во время полета, что в свою очередь ставит под угрозу выполнение всей космической миссии. С учетом этого, при решении задач, стоящих перед космической радиобиологией, необходимы модельные исследования морфо-функциональных нарушений в различных отделах ЦНС экспериментальных животных при действии излучений разного качества.

Известно, что через 3 месяца после облучения изменения ЦНС проявляются в выраженных нарушениях пространственной ориентации, угнетении когнитивных функций [6]. Авторы связывают эти нарушения не только с гибелью нейронов (прежде всего, в гиппокампе, как наиболее уязвимой в этом случае структуры ЦНС) [*Rabin et al.*, 2004; *Britten et al.*, 2012]. Действие ионизирующего излучения на ЦНС вызывает комплекс сложных биохимических и

морфофизиологических реакций. Среди структур старой коры головного мозга особый интерес представляет гиппокамп. Это полимодальная структура, то есть выполняющая множество различных функций. Он отвечает за процесс обучения, формирования кратковременной и долговременной памяти, а при взаимодействии с другими отделами отвечает за формирование эмоций. Гиппокамп выделяет и удерживает в потоке внешних стимулов важную информацию, то есть выполняет ту же функцию, что оперативная память компьютера.

Возможные морфологические и функциональные нарушения в нейронах гиппокампа в ходе космического полета ставят под угрозу вероятность успешного выполнения миссии.

Не менее важной структурой, является мозжечок, участвующий в реализации процессов координации и регуляции произвольных и непроизвольных движений, вегетативных и поведенческих функций [10]. Основным структурным элементом коры мозжечка являются крупные эфферентные нейроны ганглионарного слоя – клетки Пуркинье. На них проецируются практически все виды сенсорных раздражений: кожные, зрительные, слуховые, вестибулярные и др. [4].

Цель исследования – изучение влияния ионизирующего излучения – протонов 171МэВ в дозе 1Гр на поведенческие реакции экспериментальных животных и выявление морфологических изменений в гиппокампе и мозжечке в разные сроки после воздействия.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 39 самцах аутбредных крыс *Sprague Dawley* линии, возраста 6,5-7,5 недель. Животные были разделены на 2 группы: интактный контроль и группа, облученная на фазотроне ОИЯИ протонами в дозе 1 Гр.

Все исследования над животными проводили с соблюдением всех требований и правил биоэтики содержания лабораторных животных в условиях вивария, установленных в ГНЦ РФ ИМБП РАН.

Животные были протестированы на установке «Открытое поле» [13,14] на 30 и 90 сутки после облучения. Каждое животное тестировалось 6 минут. В ходе эксперимента были посчитаны показатели (в первые три минуты и последующие три минуты) *эмоционального статуса* (ЭС). Для определения ЭС животных учитывали сумму параметров: груминг, замирания и движения на месте. Для оценки *ориентировочно-исследовательской поведенческой реакции* (ОИР) у крыс использовали сумму параметров: сектора, центр, норки (заглядывание в круглое отверстие пола камеры), стойки с упором и без упора. Статистическая обработка проведена в программе *Microsoft Excel*, статистическая значимость рассчитывали по критерию Стьюдента. Результаты считали статистически значимыми при $p \leqslant 0{,}05$.

Декапитация животных была проведена на 30 и 90 сутки после облучения. Обработка биологического материала и приготовление препаратов проходила в соответствии со стандартной гистологической техникой [2]. Гистологические срезы окрашивались крезил-виолетом по методу Ниссля.

Для оценки степени тяжести структурных нарушений в нейронах гиппокампа крыс использована количественная методика оценки морфологических изменений клеток [7]. В препарате от каждого животного анализировали все клетки гиппокампа полей *CA1*, *CA2*, *CA3*. В зависимости от степени структурных нарушений выделяли группы клеток: неизмененные и измененные нейроны (легкоизмененные и дистрофические) [12]. В мозжечке был посчитан показатель разреженности клеток Пуркинье, для этого в препаратах от каждого животного в 50 полях зрения посчитано полное количество клеток Пуркинье. Полученные материалы статистически обработали в программе *Past3*. Статистическую значимость рассчитывали с помощью критерия Манна-Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $p \leqslant 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. При облучении протонами произошли значительные изменения поведения у облученных крыс. Важно учитывать, что поведение животных в первые 3 минуты тестирования связано с такими эмоциогенными факторами, как внезапность, необычность и новизна. В дальнейшем оно переходит в поведение патрулирования, которое внешне не отличается от первоначального, но имеет иные нейрохимические механизмы [3].

Наблюдения показали, что после облучения протонами в дозе 1Гр на 30-е сутки произошло значительное уменьшение ОИР с 1 по 3 минуты у облученных крыс; по отношению к группе контроля показатель ОИР выше; ЭС отличается незначительно (рис.1). На 90-е сутки у облученных животных наблюдались более высокие показатели ОИР и ЭС по отношению к контролю в первые три минуты. В следующие три минуты показатель ОИР оставался выше, чем в контрольной группе, но снизился относительно первых трех минут. Показатель ЭС у облученных животных в период с 4 по 6 минуты

увеличился по отношению к первым трем минутам (рис. 2).

Проведенный качественный и количественный анализ морфологического состояния нейронов выявил, что на 30-е и 90-е сутки количество функционально-измененных нейронов у облученных животных превышает число таких клеток у необлученных (табл. 1, 2). В мозжечке облученных животных наблюдается разреженность клеток Пуркинье на 30-е сутки (рис. 3).

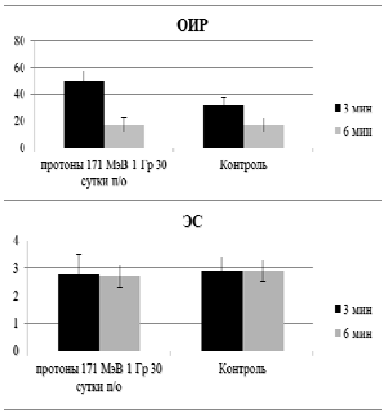


Рис. 1. Результаты теста «Открытое поле» на 30-е сутки

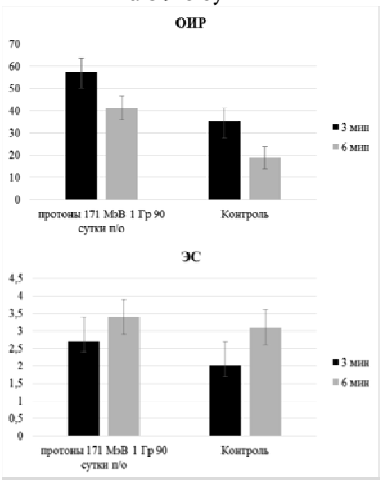


Рис. 2. Результаты теста «Открытое поле» на 90-е сутки

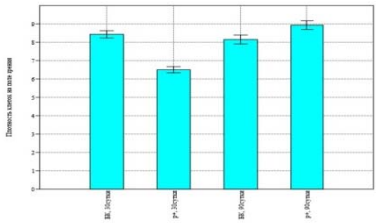


Рис. 3. Разреженность клеток Пуркинье в мозжечке на 30-е и 90-е сутки

Таблица 1

Результаты количественного анализа морфологических изменений нейронов, 30 сутки, ($\mu \pm m$) %

Группы	Нейроны без видимых изменений	Нейроны с различными типами изменений
Контрольная группа	53,3±4,07	27,5±2,90
Облученные протонами	29,9±3,66*	39,7±4,50*

Примечание: * – Статистически значимые различия с группой биоконтроля (критерий Манна-Уитни, $p \leqslant 0,05$)

Таблица 2

Результаты количественного анализа морфологических изменений нейронов, 90 сутки, ($\mu \pm m$) %

Группы	Нейроны без видимых изменений	Нейроны с различными типами изменений
Контрольная группа	49,6±4,74	29,1±3,44
Облученные протонами	32,4±4,21*	43,6±5,30*

Примечание: * – Статистически значимые различия с группой биоконтроля (критерий Манна-Уитни, $p \leqslant 0,05$)

Полученные нами результаты в проведенном эксперименте согласуются с данными из литературных источников. У облученных животных число морфологически-измененных нейронов (гипо- и умеренно-гиперхромных) и дистрофических у крыс, подвергавшихся воздействию протонов, больше, чем у интактных животных. В разные сроки после облучения у животных наблюдались отличия в поведении по сравнению с контрольной группой. Облученные животные находились в более эмоционально напряженном состоянии.

На 30 и 90 сутки облученные крысы проявляли большую исследовательскую активность и были более подвижны по отношению к контрольной группе.

Заключение. В результате исследования показано действие протонов на ЦНС: видны как изменения на поведенческом уровне (увеличение показателя ОИР как на 30, так и на 90 сутки после облучения, увеличение ЭС в долгосрочном периоде), так и нарушения на клеточном уровне: стабильное превалирование числа измененных нейронов у облученных животных в разные сроки.

Морфологическое исследование полей *CA1*, *CA2*, *CA3* полей гиппокампа показало статистические различия соотношения нормохромных нейронов к числу нейронов с нарушениями разных типов как на 30, так и на 90 сутки. При подсчете показателя разреженности клеток Пуркинье мозжечка статистически значимым было снижение показателя у облученных животных на 30 сутки.

Представленные результаты нейроморфологических исследований разных структур центральной нервной системы подтверждают гипотезы об опасности космического излучения для мозга. По результатам полученных данных видно, что изменения в поведенческих реакциях облученных животных сопровождаются нарушениями в морфологии нейронов. Это наблюдение позволяет предположить возможную корреляцию между структурными и поведенческими нарушениями у животных, подвергшихся облучению.

Проведенное в данной работе исследование дает важную информацию о влиянии излучения на ЦНС в разные сроки после облучения, что является одной из основных задач космической биологии и медицины в связи с планированием пилотируемых полётов за пределами околоземной орбиты.

ANALYSIS OF MORPHOFUNCTIONAL STATE OF EXPERIMENTAL ANIMALS BRAIN FIELDS UNDER PROTON IRRADIATION OVER THE LONG PERIOD

I.A. KOLESNIKOVA[*,**], N.N. BUDENNAY[*,**], YU.S. SEVERIUKHIN[*,**], K.N. LYAKHOVA[*,**], D.M. UTINA[*,**]

[*] *Joint Institute for Nuclear Research, Joliot-Curie Str., 6, Dubna, Moscow oblast, 161980, Russia*
[**] *State Budgetary Educational Institution of Higher Education of Moscow region "University "Dubna", 19 Universitetskaya Str., Dubna, Moscow region, 141982, Russia, e-mail: innakolesnikova@jinr.ru*

Abstract. A study of the biological effects of ionizing radiation on the body at different time periods after irradiation is a topical theme for solving the problems of space biology as the flight to Mars is under preparation now. Furthermore, the growing popularity of the use of proton therapy for cancer/oncology treatment in different parts of the brain makes it relevant to analyze and predict post-radial lesions of the central nervous system (CNS). This research is devoted to the analysis of CNS functional disorders in rat brains, possible violations of behavioral reactions after proton irradiation were evaluated. The experiment is carried out with Sprague Dawley male rats at the age of 6.5-7.5 weeks and the experimental animals are irradiated by protons with 1Gr with the energy of 171MeV by proton beam of the JINR Phasotron. The animals are tested by special behavioral tests which are called Open field. The decapitation of experimental animals is performed and the biological material for morphological study was taken 30 and 90 days after the irradiation. The quantitative analysis of rarefied cells of the Purkinje in cerebellum was performed; furthermore the hippocampus is investigated for finding the neurons with damage. As a result of morphofunctuonal analysis the statistically significant decrease in the density of Purkinje cells on the 30th day was investigated. The number of hippocampal neurons with morphofunctional changes in irradiated animals statistically significantly exceeded the number of cells with the same changes in the control group on both the 30th and 90th days after irradiation. The number of normochromic neurons in the control group of animals is higher than in the irradiated group.

Key words: protons, ionizing radiation, neurons, hippocampus, cerebellum, rats.

Литература

1. Афанасьев Р.В., Гундарова О.П., Ильичева В.Н., Маслов Н.В. Отдаленные структурно-функциональные эффекты в головном мозге после воздействия ионизирующего излучения в малых дозах // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2008. Т. 23, № 3. С. 116–117.

2. Буденная Н.Н., Федоренко Б.С., Петров В.М. Методика определения цитоморфологических изменений в нейронах головного мозга и внутренних органов лабораторных животных, 1992. -

References

1. Afanas'ev RV, Gundarova OP, Il'icheva VN, Maslov NV. Otdalennye strukturno-funkcional'nye ehffekty v golovnom mozge posle vozdejstviya ioniziruyushchego izlucheniya v malyh dozah [Distant structural and functional effects in the brain after exposure to ionizing radiation in small doses]. Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii. 2008;23(3):116-7. Russian.

2. Budennaya NN, Fedorenko BS, Petrov VM. Metodika opredeleniya citomorfologicheskih izmenenij v nejronah golovnogo mozga i vnutrennih organov labo-ratornyh zhivotnyh; 1992. - №I – I04 – 7 – 92.

№I – I04 – 7 – 92. С. 1–9.

3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Высш. шк, 1991. 400 с.

4. Давыдова И. Секреты мозга. Эксмо, 2010. 320 с.

5. Ильичева В.Н., Ушаков Б.Н. Анализ морфофункциональных состояния различных отделов коры головного мозга при действии ионизирующего излучения // Вестник новых медицинских технологий. 2012. №2. С. 338.

6. Исследованиям V. VII съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) Москва, 21-24 октября 2014 года. Москва, 2014. Т. 21. С. 11.

7. Ташкэ К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию, издательство академии социалистической республики Румынии, 1980. С. 191

8. Установка «Открытое Поле» [Электронный ресурс] / OpenScience: современное оборудование для работы с животными. 2004. Режим доступа: http://www.openscience.ru/index. php?page=ts&item=001, дата обращения: 10.05.18.

9. Федоренко Б.С. Радиобиологические эффекты корпускулярных излучений. Москва: Наука, 2006. С. 6–17, 25–38.

10. Хомутов А.Е., Кульба С.Н. Анатомия Центральной Нервной Системы. М.: Феникс, 2010. 308 с.

11. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных / Под ред. СП Ярмоненко, 2004. 549 с.

12. Garman R.H. Histology of the central nervous system // Toxicologic pathology. 2011. Т. 39, № 1. P. 22–35.

13. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // Journal of Comparative Psychology. 1934. Т. 18, № 3. P. 385.

14. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity // Journal of Comparative Psychology. 1936. Т. 22, № 3. P. 345.

Russian.

3. Buresh YA. Metodiki i osnovnye ehksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya [Methods and basic experiments in the study of brain and behavior]. Vyssh. SHk; 1991. Russian.

4. Davydova I. Sekrety mozga [The secrets of the brain]. EHksmo; 2010. Russian.

5. Il'icheva VN, Ushakov BN. Analiz morfofunkcional'nyh sostoyaniya razlichnyh otdelov kory golovnogo mozga pri dejstvii ioniziruyushchego izlucheniya [Analysis of morphofunctional state of various parts of the cerebral cortex under the action of ionizing radiation]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2012;2:338. Russian.

6. Issledovaniyam V. VII s"ezd po radiacionnym issledovaniyam (radiobiologiya, radioehkologiya, radiacionnaya bezopasnost') Moskva, 21-24 oktyabrya 2014 goda [Research V. VII Congress on radiationonnym research (radiobiology, RA-Geoekologiya, radiation safety), Moscow, 21-24 October 2014]. Moscow; 2014. Vol. 21. Russian.

7. Tashkeh K. Vvedenie v kolichestvennuyu citogistologicheskuyu morfologiyu, izdatel'stvo akademii socialisticheskoj respubliki Rumynii [Introduction to quantitative CITO-histological morphology, publishing house of the Academy of the socialist Republic of Romania]; 1980. Russian.

8. Installation "open Field" [Electronic resource] / OpenScience: modern equipment for working with animals. 2004. Mode of access: http://www.openscience.ru/index. php?page=ts&item=001 date of access: 10.05.18.

9. Fedorenko BS. Radiobiologicheskie ehffekty korpuskulyarnyh izluchenij [Radiobiological effects of corpuscular radiation]. Moscow: Nauka; 2006. Russian.

10. Homutov AE, Kul'ba SN. Anatomiya Central'noj Nervnoj Sistemy [Anatomy Of The Central Nervous System]. Moscow: Feniks; 2010. Russian.

11. YArmonenko SP, Vajnson AA. Radiobiologiya cheloveka i zhivotnyh. Pod red. SP YArmonenko [Radiobiology of humans and animals. Under the ed. JV Yarmonenko]; 2004. Russian.

12. Garman RH. Histology of the central nervous system. Toxicologic pathology. 2011;39(1):22-35.

13. Hall CS. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. Journal of Comparative Psychology. 1934;18(3):385.

14. Hall CS. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. Journal of Comparative Psychology. 1936;22(3):345.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 182–186
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 182–186

УДК: 616.5-08.615.2-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ИМПЛАНТА ИЗ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ЕГО СУБДЕРМАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Г.М. МОГИЛЬНАЯ, Е.В. ФОМИЧЕВА, Ю.Е. БЛАТТ

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет», ул. Седина, д. 4, Краснодар, Россия, 35060, e-mail: fomevg@mail.ru

Аннотация. Работа посвящена характеристике состояния дермы в зоне введения полимолочной кислоты. Дана оценка морфогистохимического статуса самого импланта и морфологических преобразований, происходящих на участке прилежащей дермы в сроки соответствующие 2 неделям, 1 и 2 месяцам после введения препарата. Исследование выполнено на крысах (30 особей), препарат вводили субдермально в объеме 0.05 мл. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван- Гизону, а также с помощью реакции Маллори и Массона. Коллагеновые волокна изучали после окраски пикросириусом красным в поляризованном свете. Показано, что полимолочная кислота активирует эффект неоколлагеногенеза в различных зонах по-разному. Так для капсулы, окружающей имплант, характерно увеличение ее толщины; для дермы, расположенной над имплантом, активация синтеза коллагена установлена по эффекту утолщения самих коллагеновых волокон и увеличению их числа, а в зоне импланта, за счет увеличения числа клеток от периферии к центру и появлением между ними коллагеновых фибрилл. Результаты морфометрии соотношения фибриллярного и аморфного компонентов в дерме и импланте подтверждают увеличение обьема волокнистого компонента на участке дермы и наличия выраженной тенденции к его увеличению в зоне импланта.

Ключевые слова: дерма, полимолочная кислота, имплант, филлер, неоколлагеногенез в дерме.

Введение. Одной из актуальных задач современной регенеративной медицины является разработка тканеинженерных конструкций, способных заменить на постоянной или временной основе поврежденные или разрушенные органы и ткани. Особый интерес в этих реконструктивных процессах представляет кожа, сочетающая в себе единство структуры и функции, которое весьма ярко проявляется в условиях заживления кожных ран, процесс, который с полным основанием может быть определен как многофакторный. Ведущим клеточным элементом, обеспечивающим восстановление дермы и, в частности, ее экстрацеллюлярного матрикса, являются фибробласты. Регуляцией функциональной активности которых заняты косметологи, использующие обширный арсенал филлеров для устранения возрастных изменений кожи, при этом одним из оценочных факторов используемых вольюмайзеров является степень активации ими процесса неоколлагеногенеза [7]. Согласно данным литературы к филлерам, обладающим подобным эффектом наряду с ранее нами изученным препаратом радиесс [1] относится и полимолочная кислота – это синтетический биодеградирующий полимер, не вызывающий отторжения, полностью резорбируемый и элиминирующийся из организма естественным путем [6]. Однако механизм влияния полимолочной кислоты на компоненты дермы, а также морфогистохимический статус самого импланта до конца остаются неизученными и активно дискутируются в литературе [2,3,8].

Цель исследования – характеристика импланта из полимолочной кислоты и оценка состояния дермы в зоне его введения.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования послужили беспородные крысы-самцы весом 200-250 г. (30 особей, ПЛЖ «Рапполово» Ленинградской области). Эксперимент проводился с разрешения Этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Всем животным вводили препарат полимолочной-α-кислоты (*AestheFill, Korea*) субдермально в объеме 0,05 мл в заднюю часть шеи (холку). В группе интактных животных (контроль) использовали стерильный физиологический раствор в той же дозе. Оценку результатов проводили спустя две недели, 1 и 2 месяца после инъекции. Для морфологического изучения использовали биоптаты кожи, которые подвергали стандартной гистологической обработке. Полученные срезы окрашивали ге-

матоксилином и эозином, по Ван-Гизону, а также с помощью реакций Маллори и Массона [4]. Для типирования фибриллярных структур дермы использовали окраску пикросириусом красным [5] с последующим изучением микропрепаратов в поляризованном свете при скрещенном анализаторе и поляризаторе микроскопа МП-8, где превалирование красного спектра в поляризованном свете интерпретировали как показатель наличия коллагена I типа, а превалирование зеленого спектра как факт присутствия коллагена III типа.

Для морфометрической характеристики доли обьема аморфного и волокнистого компонентов дермы и импланта использовали микропрепараты, окрашенные по Ван-Гизону. При этом микрофотографии в формате *TIE* получали с помощью цифровой камеры для микроскопии *DCM* 310 и программы *Scion Image*. Соотношение аморфного и волокнистого компонента рассчитывали как процент площади видеоизображения микропрепарата при увеличении 40×10. Измеряемая площадь составляла 100×100 пиксел компьютерного монитора класса *SVGA* при его разрешении 600×800 пикселей. Все цифровые данные подвергались статистической обработке по программе *Microsoft Excell*.

Результаты и их обсуждение. В микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, через 2 недели после имплантации четко видна зона введения *полимолочной кислоты* (ПК), окруженная капсулой, состоящей из рыхлой волокнистой соединительной ткани. Внутренняя часть импланта представляет собой многочисленные вакуолизированные участки, которые следует рассмат-ривать как микросферы, ограниченные одним слоем оксифильно окрашенных плоских клеток, формирующих вокруг микросфер капсулу. Между микросферами типируются капилляры и артериолы, заполненные кровью, а также значительное количество клеток макрофагоподобного типа. Гигантские многоядерные клетки отсутствуют.

Спустя 1 месяц на участке импланта происходит некоторое снижение диаметров микросфер. В зоне между микросферами увеличивается число клеток и это в основном клетки фибробластического ряда. На участке наружной капсулы снижается количество кровенаполненных кровеносных сосудов, но капсула окружает весь имплант, отграничивая его от дермы.

Через 2 месяца после инъекции ПК размеры импланта уменьшаются, часть вакуолей вокруг микросфер сужается, но стенки вакуолей сохраняют один слой уплощенных оксифильно окрашенных клеток, а местами и тонких фибрилл. Внутри импланта появляются пучки коллагеновых волокон, разделяющие его на отдельные фрагменты. Территория вокруг микросфер содержит большое количество клеток удлиненной формы с гиперхромными ядрами. По краю капсулы, окружающей имплант, появляются единичные гигантские клетки инородных тел. Первоначально капсула, выявляемая вокруг импланта, формируется с его наружной стороны как прослойка рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим количеством капилляров и артериол, содержащих эритроциты, с последующим добавлением к ней коллагеновых волокон и отдельных гладкомышечных клеток. На стороне импланта, прилежащего к дерме, капсула имеет вид прослойки рыхлой соединительной ткани, и этот статус сохраняется до 2 месяцев наблюдения.

При окраске по методу Маллори в серии срезов, соответствующих трем срокам наблюдения, отмечается, что через две недели после введения импланта внутри его (в зоне между микросферами) выявляются группы коротких коллагеновых волокон. Спустя один месяц на стороне импланта, прилежащего к дерме, типируется капсула из коллагеновых волокон, содержащая короткие, но достаточно широкие пучки. Большое количество коллагена и в дерме под имплантом. В самом импланте каждая микросфера окружена темно-синими тонкими волокнами, образующими для нее капсулу. Между микросферами аморфный матрикс голубого цвета с большим количеством клеток.

В течение двух последующих месяцев наблюдения характер распределения фибриллярного компонента дермы сохраняется, и она представлена грубыми темно-синими коллагеновыми волокнами, расположенными плотно и в зоне сетчатого, и сосочкового слоев. Размеры импланта уменьшаются за счет снижения числа микросфер и размеров их полости.

Проведенная нами морфометрия обьема волокнистого и аморфного матрикса в срезах, окрашенных по Ван-Гизон показала, что по сравнению с контролем (18,3±0,6) $p<0,05$) в зоне дермы над имплантом происходит увеличение фибриллярного компонента почти в 2 раза (31,1±1,4 $p<0,05$) и снижение обьема аморфного

компонента (28,6±0,6 – контроль и 18,1±0,9 – 2 месяца после инъекции). На участке импланта выявляется лишь тенденция к увеличению обьема волокнистого компонента. При суммарном выявлении коллагенов I и III типов в окраске пикро-сириусом красным с последующей поляризационной микроскопией оказалось, что спустя 2 недели после введения ПК в зоне вокруг импланта четко дифференцируется широкая капсула, прилежащая к дерме с внутренней стороны, и узкая с наружной. При этом волокна внутренней капсулы обнаруживают свечение от желтого к красному спектру, что указывает на присутствие в ее составе коллагена I типа. В тоже время наружная капсула тонкая, она образована короткими фибриллами, обнаруживающими свечение красного и желтого цветов, в виде «штрихов».

При изучении срезов, полученных спустя 1 месяц после введения импланта в окраске сириусом красным с последующей поляризационной микроскопией, отмечается эффект свечения коллагеновых волокон капсулы, волокна этого типа обнаруживают желтое свечение с единичными точечными вкраплениями красного цвета. Свечение волокон вокруг микросфер отсутствует, и имплант не содержит структур с эффектом свечения. Вокруг импланта скапливаются волокна темно-зеленого цвета с примесью небольшого количества волокон с желтым свечением, что указывает на преимущественное присутствие коллагена III типа.

Спустя два месяца после введения полимолочной кислоты при изучении окраски сириусом красным в поляризованном свете коллагеновые волокна капсулы обнаруживают с внутренней стороны ярко-желтое свечение, а с наружной – одни волокна желтого цвета, а другие – зеленого цвета, что указывает на присутствие здесь коллагенов I и III типов. Внутри импланта появляются волокна, обнаруживающие свечение красного, желтого и зеленого цветов, при этом волокна упомянутого цвета имеют вид коротких «штрихов». Местами можно увидеть, что поверхность микросфер ограничена желто-красными волокнами, как бы формирующими стенку капсулы, не всех, а лишь отдельных микросфер.

Полученные данные показывают, что спустя две недели после инъекции ПК в зоне под дермой типируется имплант, окруженный соединительнотканной капсулой. С учетом данных, имеющихся в литературе, за две недели пребывания импланта вокруг него произошли изменения, связанные с адсорбцией белков крови в зоне альтерации. Каскад реакций, разыгрывающийся на поверхности биоматериала и вокруг него, в конечном счете привел к формированию «временной матрицы» с набором веществ, обеспечивающих в дальнейшем реакцию ткани на инородное тело [8]. Исходом такой реакции следует считать факт формирования биологической системы, способной к модуляции активности макрофагов, пролиферации и активации фибробластов, задействованных в воспалительной реакции, а позже и в процессе заживления. При этом острый воспалительный ответ инициируется нейтрофилами с последующим рекрутированием моноцитов/макрофагов, и завершается обычно в течение одной недели.

Описываемый нами срок, а это – 2 недели, исходя из фазности ответной реакции ткани на инородное тело, соответствует стадии хронического воспаления. Изменения в этот период связаны с появлением в зоне импланта мононуклеаров (моноцитов и лимфоцитов), единичных гигантских клеток инородных тел, а вокруг импланта грануляционной ткани.

К концу первого месяца происходит переход грануляционной ткани, окружающей имплант, в плотную соединительную ткань с наличием аутологичных коллагеновых фибрилл. Микросферы сужаются, но они сохраняют эффект инкапсуляции и окружены уплощенными фибробластами. Развивающаяся стадия хронического воспаления протекает с образованием грануляционной ткани, инфильтрированной фибробластами и сохраняющей эффект неоваскуляризации. Эти изменения отчетливо наблюдаются по краям импланта, где локализуется капсула.

Сравнительное изучение объема коллагенов I и III типов показало различное их содержание с нарастанием объема коллагена III типа. Однако капсула на участке, обращенном к дерме, содержит преимущественно коллаген I типа. Присутствие гигантских клеток инородных тел наблюдается спустя 1 месяц после имплантации и может интепретироваться как механизм пролонгированной ответной реакции.

Микросферы импланта по сути дела формируют скафолд для новообразования ткани с эффектом стимуляции процесса синтеза коллагена вокруг него с трансдукцией этого процесса и на участке прилежащей дермы. С удлинением

срока наблюдения наблюдается уменьшение размеров микросфер, в некоторых случаях видны пучки коллагеновых волокон, разграничивающих имплант на территории.

Относительно механизма влияния ПК на дерму единое мнение в литературе отсутствует. Череда наблюдаемых в зоне импланта изменений связана с появлением в нем фибробластов, макрофагов и расположенных между микросферами отдельных филамент.

Заключение. Таким образом, полученные данные позволяют считать, что ПК активирует эффект неоколлагеногенеза в различных зонах по разному. Так для капсулы, окружающей имплант, характерно увеличение ее толщины; для дермы, расположенной над имплантом, активация синтеза коллагена улавливается по эффекту утолщения самих коллагеновых волокон и увеличение их числа, а в зоне импланта, за счет увеличения числа клеток от периферии к центру и появлением между ними коллагеновых фибрилл. Результаты морфометрии соотношения фибриллярного и аморфного компонентов в дерме и импланте подтверждают увеличение объема волокнистого компонента на участке дермы и наличия выраженной тенденции к его увеличению в зоне импланта.

MORPHOLOGICAL TRANSFORMATIONS OF THE IMPLANT FROM THE POLYLACTIC ACID AT ITS SUBDERMAL LOCALIZATION

G.M. MOGILNAYA, E.V. FOMICHEVA , Y.E. BLATT

Kuban State Medical University, Sedin Str., 4, Krasnodar, 350063, Russia, e-mail: fomevg@mail.ru

Abstract. The work is devoted to the characterization of the derma state in the zone of polylactic acid injection. The evaluation of the morphohistochemical status of the implant itself and of the morphological transformations occurring on the adjacent dermis in terms corresponding to 2 weeks, 1 and 2 months after the administration of the drug is given. The study was performed on rats (30 individuals), the drug was subdermally administered in volume 0.05 ml. The sections were stained with hematoxylin and eosin, according to Van Gieson, and also with the help of the Mallory and Masson reaction. Collagen fibers were studied after staining with picrosirius red in polarized light. It is shown that polylactic acid activates the effect of neocollagenogenesis in different zones in different ways. So for the capsule surrounding the implant, it is characteristic to increase its thickness; for the dermis located above the implant, the activation of collagen synthesis is established by the effect of thickening the collagen fibers themselves and increasing their number, and in the implant zone, by increasing the number of cells from the periphery to the center and the appearance of collagen fibrils between them. The results of the morphometry of the ratio of fibrillar and amorphous components in the dermis and implant confirm the increase in the volume of the fibrous component in the dermal region and a tendency to increase in the implant zone.

Key words: dermis, polylactic acid, implant, filler, neocollagenogenesis in the dermis.

Литература

1. Могильная Г.М., Фомичева Е.В., Блатт Ю.Е. Статус эпидермиса при введении препаратов «Радиесс» и «Люминера» // Кубанский научный медицинский вестник. 2015. Т.153, №4. С. 93–97.

2. Carruthers J., Humphrey S. Filler and Neocollagenesis // Dermatol Surg. 2014. Vol. 40. P. 134–136.

3. Lamperle G., Knapp T., Sadick N. Arte Fill permanent injectable for soft tissue augmentation: I. Mechanism of action and injection techniques // Aesth Plast Surg. 2010. Vol. 34. P. 264–272.

4. Pearce A. Histochemistry. Theoretical and ap-

References

1. Mogil'naya GM, Fomicheva EV, Blatt YUE. Status ehpidermisa pri vvedenii preparatov «Radiess» i «Lyuminera» [The status of the epidermis with the introduction of drugs "Radiesse" and "Luminaire»]. Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 2015;153(4):93-7. Russian.

2. Carruthers J, Humphrey S. Filler and Neocollagenesis. Dermatol Surg. 2014;40:134-6.

3. Lamperle G, Knapp T, Sadick N. Arte Fill permanent injectable for soft tissue augmentation: I. Mechanism of action and injection techniques. Aesth Plast Surg. 2010;34:264-72.

4. Pearce A. Histochemistry. Theoretical and ap-

plied. London, 1968. 561 p.

5. Rich L., Whittaker P. Collagen and Picrosirius Red Staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution // Braz. J. Morphol. Sci. 2005. Vol. 22. P. 97–104.

6. Schierle C., Casas L. Nonsurgical rejuvenation of the aging face with injectable poly-L-lactic acid for restoration of soft tissue volume // Aesthet Surg J. 2011. Vol. 31. P. 95–109.

7. Turlier V., Delalleau A., Casas C. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study // J Dermatol Sci. 2013. Vol. 69. P. 187–194.

8. Vleggaar D., Fitzgerald R., Lorenc Z.P. Composition and mechanism of action of poly-L-lactic acid in soft tissue augmentation // J Drugs Dermatol. 2014. Vol. 13. P. 29–31.

plied. London; 1968.

5. Rich L., Whittaker P. Collagen and Picrosirius Red Staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. Braz. J. Morphol. Sci. 2005;22:97-104.

6. Schierle C, Casas L. Nonsurgical rejuvenation of the aging face with injectable poly-L-lactic acid for restoration of soft tissue volume. Aesthet Surg J. 2011;31:95-109.

7. Turlier V, Delalleau A, Casas C. Association between collagen production and mechanical stretching in dermal extracellular matrix: in vivo effect of cross-linked hyaluronic acid filler. A randomised, placebo-controlled study. J Dermatol Sci. 2013;69:187-94.

8. Vleggaar D, Fitzgerald R, Lorenc ZP. Composition and mechanism of action of poly-L-lactic acid in soft tissue augmentation. J Drugs Dermatol. 2014:13:29-31.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 187–193

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 187–193

УДК: 611.81:616-001.28/.29

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОННОГО И ГЛИАЛЬНОГО СОСТАВА БЛЕДНОГО ШАРА В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПОСТРАДИАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Н.А. НАСОНОВА, Н.Т. АЛЕКСЕЕВА, Д.А. СОКОЛОВ, А.Г. КВАРАЦХЕЛИЯ, Н.Н. ПИСАРЕВ, А.А. ЗАВАРЗИН, С.О. ФЕТИСОВ, Л.А. ЛОПАТИНА

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия

Аннотация. Целью исследования явилось изучение морфофункциональной организации и нейроно-глиальных соотношений в бледном шаре в ближайшие и отдаленные сроки после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100, 250 и 660 сГр/ч. Исследования выполнялись на 96 крысах-самцах массой 200-230 г, в возрасте 1,5-2 месяцев. В связи с условиями эксперимента животные были объединены в 16 групп. Взятие материала проводилось на 1-е сут., через 6 мес. и 1 г. после воздействия. Объектом исследования служили клетки бледного шара головного мозга крыс. Обзорные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, более детальную характеристику нервных клеток получали при окрашивании препаратов по методу Ниссля. При этом проводили подсчет нейроцитов с различными формами морфологической изменчивости. В результате проведенного исследования установлено, что однократное воздействие ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр вызывает в нейроцитах бледного шара комплекс реактивных и дистрофически-некротических изменений, степень выраженности которых пропорциональна мощности дозы и наиболее выражены через 1 сут. после облучения. Через 1,5 года после воздействия ионизирующего излучения повреждающий эффект не обнаруживается. Полученные данные свидетельствуют о преходящих нарушениях моторных функций, опосредованных влиянием бледного шара.

Ключевые слова: бледный шар, ионизирующее излучение, нейроны, нейроглия.

Введение. Радиационная катастрофа на Чернобыльской АЭС повлекла за собой серьезные нарушения психофизиологического статуса ликвидаторов, а также населения, проживающего на загрязненных радиацией территориях [3-5].

Изменения в состоянии здоровья, которые наблюдаются сегодня у людей, причастных к ликвидации аварии на ЧАЭС, представляют сочетание биологической реакции на внешнее и внутреннее облучение малыми дозами до 50 сГр, хронического стресса от осознания самого факта участия в радиационно-опасных работах, дополнительного влияния химических, физических и социальных факторов. Подтверждением тому являются неопровержимые факты обнаружения у ликвидаторов и лиц, проживающих на РЗМ, ряда заболеваний, в генезе возникновения которых основная роль отводится нерадиационным факторам [5].

Изучение характера структурно-функциональных изменений, наступающих в различных анатомо-физиологических и функциональных системах под влиянием антропогенных факторов, с целью выявления морфофункциональных предпосылок для формирования соответствующих санитарно-гигиенических нормативов ПДУ и ПДК; организацию мероприятий, направленных на снижение уровня вредных производственных факторов и, как следствие, профилактику и лечение развивающихся заболеваний и осложнений [1]. Ведущее значение при этом приобретает изучение структурных основ изменчивости ЦНС, осуществляющей в организме интегративную функцию. Между тем ранние и отдаленные эффекты малых доз ионизирующего излучения в настоящее время представляют большой интерес в связи с увеличением значений естественного радиационного фона, расширением практического использования ионизирующей радиации в национальной экономике. Большую опасность могут представлять малые дозы вследствие способности их к суммации, а также существования больших вариаций индивидуальной радиочувствительности и радиоповреждаемости. Имеющиеся данные о морфологических изменениях компонентов различных отделов нервной системы при действии факторов внешней среды лишь в общих чертах отражают характер компенсаторно-приспособительных, деструктивных и реактив-

ных реакций. Стриопаллидарная система играет большую роль в регуляции моторики, а также в контроле сложных психических процессов, таких как формирование внимания и восприятия, памяти и эмоционально-мотивационных реакций, а также в организации сложных форм поведения [6-8].

Таким образом, проблема морфологической оценки функционального состояния ЦНС и, в частности, клеток стриопаллидарной системы в ранние и отдаленные сроки после воздействия малых уровней ионизирующих излучений имеет важное научно-практическое значение.

Цель исследования – проанализировать структурно-функциональные изменения нервных клеток и нейроно-глиальные соотношения в бледном шаре в ближайшие и отдаленные сроки после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100, 250 и 660 сГр/ч.

Материалы и методы исследования. Эксперимент спланирован и проведен в ГНИИИ ВМ МО РФ, г. Москва. Исследования выполнялись на 96 крысах-самцах массой 200–230 г, в возрасте 1,5–2 месяцев. Животные подвергались общему равномерному однократному гамма-облучению (спектр 1,2 МЭв) в дозе 0,5 Гр с различной ее мощностью в 100, 250, 660 сГр/ч. Взятие материала проводилось на 1-е сут., 6 мес. и 1 г. после воздействия. Фрагменты мозга фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Объектом исследования служили клетки бледного шара, изучение которых проводили на фронтальных срезах головного мозга крыс. Обзорные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, более детальную характеристику нервных клеток получали при окрашивании препаратов по методу Ниссля. При этом проводили подсчет нейроцитов с различными формами морфологической изменчивости. Также подсчитывали общую численность глиальных клеток, количество сателлитной глии, а также число сателлитных глиоцитов вокруг реактивно- и дистрофически измененных нейронов. Сателлитными считали глиоциты, находившиеся от тела клетки на расстоянии не более диаметра его ядра. Полученные данные обрабатывали методами описательной статистики в программе *STATISTICA* 6.0.

Результаты и их обсуждение. Через 1 сут. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч отмечены явления застоя в микроциркуляторном русле стриопаллидарной системы. Выражен периваскулярный и перицеллюлярный отек. Цитоархитектоника нейроцитов бледного шара в этот срок наблюдения не нарушена. Некоторые нейроциты слабо окрашены. Отмечается следующее изменение тинкториальных свойств нейроцитов бледного шара стриопаллидарной системы. Количество гиперхромных нейроцитов незначительно отличается от контрольных значений и составляет 26,1% в бледном шаре. Происходит увеличение количества гипохромных нейроцитов за счет снижения нормохромных клеток. Количество нормохромных форм нейроцитов составляло 49,2% в бледном шаре. Количество гипохромных клеток в бледном шаре составляло 23,06% соответственно от уровня контроля.

Также отмечалось увеличение количества пикноморфных нейроцитов, количество которых в бледном шаре составило 1,2%. Количество клеток-теней также превышало уровень контроля и составляло 0,44% в бледном шаре.

Спустя 1 сутки после облучения в дозе 0,5 Гр в мощностью дозы 100 сГр/ч отмечались следующие изменения в количественном составе глиальных элементов. Общее количество глии снижалось на 5% в бледном шаре. Общее количество сателлитной глии уменьшилось на 11,8% в бледном шаре. Количество глиальных клеток, сопровождающих реактивные формы нейроцитов увеличилось на 5,4% в области бледного шара. Количество клеток-сателлитов, сопровождающих дистрофические формы нейроцитов, увеличилось на 1,5% в бледном шаре.

Через 1 сут. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч также отмечены явления застоя в микроциркуляторном русле стриопаллидарной системы. Выражен периваскулярный и перицеллюлярный отек. Цитоархитектоника нейроцитов бледного шара в этот срок наблюдения не нарушена. Некоторые нейроциты слабо окрашены.

Характер тинкториальных свойств нейроцитов отличается от биологического контроля. В бледном шаре количество нормохромных нейроцитов снижается по сравнению с биологическим контролем и достигает значения 38,4%. Количество гиперхромных и гипохромных нейроцитов повышается на 18,4% и 11,08% соответственно.

Количество пикноморфных нейроцитов в бледном шаре достигает значений 2,1%, пре-

вышая таким образом уровень контрольных значений. Количество клеток-теней составляет 0,72% в бледном шаре соответственно.

Спустя 1 сут. после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч отмечается уменьшение общего количества глиальных клеток на 19,9% в бледном шаре. Общее количество сателлитных элементов составляло 32,2% в бледном шаре, что на 18,7% соответственно ниже уровня контроля. Отмечалось повышение количества клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов в бледном шаре – на 7,5% и 1,6% соответственно.

При действии ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч спустя 1 сутки после воздействия отмечены явления застоя в микроциркуляторном русле стриопаллидарной системы. Выражен периваскулярный и перицеллюлярный отек. Цитоархитектоника нейроцитов хвостатого ядра и бледного шара в этот срок наблюдения не нарушена. Некоторые нейроциты слабо окрашены.

Отмечается следующее изменение тинкториальных свойств нейроцитов спустя 1 сутки после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч. В бледном шаре стриопаллидарной системы количество нормохромных нейроцитов снижается на 33,0%, а количество гиперхромных и гипохромных возрастает на 18,2% и 12,26% соответственно. В бледном шаре количество пикноморфных форм составляет 2,9%, а клеток-теней 0,74%.

Спустя одни сутки после облучения, общее количество глиальных клеток составляло 68,7% в бледном шаре, что 31,3% ниже контрольных значений. Общее количество сателлитной глии уменьшалось на 21,6% в бледном шаре. количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные формы нейроцитов было выше на 10,4% в бледном шаре. количество сателлитных клеток, сопровождающих дистрофические формы нейроцитов увеличивалось на 2% .

Через 6 мес. после воздействия однократного ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч большинство клеток бледного шара имеют обычную форму с четкими границами. Ядра некоторых нейроцитов распологаются эксцентрично, небольшое количество хроматина равномерно распределено или образует глыбки.

Тинкториальные свойства нейроцитов бледного шара стриопаллидарной системы через 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч незначительно отличались от контрольных значений. В бледном шаре преобладали нормохромные нейроциты, количество которых составляло 66,83%.

Гиперхромные нейроциты составили 21,13% в бледном шаре. Количество гипохромных нейроцитов бледном шаре стриопаллидарной системы составило 10,89% соответственно.

Количество пикноморфных нейронов и клеток-теней в бледном шаре 0,81% и 0,34% соответственно.

Общее количество глии спустя 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч составило 79,2% в бледном шаре относительно контрольных значений. Общее количество сателлитной глии в хвостатом ядре головного мозга незначительно отличалось от уровня контроля, так же как и количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов.

Через 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч большинство нейронов бледного шара имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Отмечалось следующее изменение тинкториальных свойств нейроцитов спустя 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч. Количество нормохромных нейроцитов в бледном шаре – 61,72%. А количество гиперхромных нейроцитов составило 24,27%, а гипохромных – 12,47%.

Через 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр, количество пикноморфных нейроцитов и клеток-теней достигало значений 1,07 и 0,47% в бледном шаре соответственно.

Общее количество глиальных клеток было ниже уровня контроля на 15,4%. Количество клеток-сателлитов в бледном шаре превышало уровень контроля на 14,5% соответственно. Общее количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов стриопаллидарной системы отличалось незначительно от уровня контрольных значений.

Через 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч. нейроциты бледного шара были округлой формы, ядра бедны хроматином, имеют центрированное ядрышко, имеющее тенденцию к набуханию.

Спустя 6 мес. после воздействия ионизирующего излучения отмечалось преобладание нормохромных форм нейроцитов, количество которых составило 67,22% в бледном шаре. Количество гиперхромных нейроцитов достигало значений 20,61%, а гипохромных – 11,03%.

Количество пикноморфных нейроцитов составило 0,88%, а количество клеток-теней в бледном шаре составило 0,26% соответственно.

Спустя 6 мес. после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч общее количество глиальных клеток составило 86,3% в бледном шаре, что на 13,8% ниже уровня контроля. Общее количество сателлитной глии в бледном шаре превышало уровень контроля на 14,3%. Количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов бледного шара незначительно отличалось от контрольных значений.

Через 1 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч большинство клеток бледного шара имели обычную форму с четкими границами. Ядра часто распологаются эксцентрично, уменьшены в объеме, небольшое количество хроматина равномерно распределено или образует глыбки.

В бледном шаре стриопаллидарной системы наблюдается иная ситуацияэ, нежели в хвостатом ядре в тот же период наблюдения. Отмечается повышение количества нормохромных нейроцитов до 67,83%, что на 5,71% выше контрольных значений. Количество гиперхромных и гипохромных нейроцитов снижается и составляет 21,97% и 8,84% соответственно.

Количество пикноморфных нейроцитов бледном шаре составляет 0,93%. Клетки-тени составляют 0,42% в бледном шаре.

Спустя 1 г. после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч отмечалось повышение количества глиальных клеток до 119,8% в бледном шаре стриопаллидарной системы относительно уровня контроля. Количество клеток-сателлитов в бледном шаре превышало уровень контроля на 7,2%. Количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов незначительно отличалось от уровня контроля.

Спустя 1 г. после однократного облучения ионизирующим излучением в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч большинство нейронов бледного шара имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Спустя 1 г. после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч анализ тинкториальных свойств нейроцитов стриопаллидарной системы свидетельствует о незначительных изменениязз базофильных свойств клеток. В бледном шаре отмечается преобладание нормохромных нейроцитов, которые составляют 63,61%, количество же гиперхромных нейроцитов достигает 20,49%, а гипохромных – 14,68%.

Пикноморфные формы нейроцитов в бледном шаре составляют 0,79%, не превышая, таким образом, уровень контрольных значений. Клетки-тени в в бледном шаре насчитывают 0,43%.

Спустя 1 г. после облучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч отмечалось увеличение количества глиальных элементов на 23,7% в бледном шаре стриопаллидарной системы относительно уровня контроля. Количество сателлитной глии бледного шара по сравнению с контрольными значениями изменялось незначительно.

Спустя 1 г. после после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч большинство нейронов бледного шара имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Спустя 1 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч отмечается незначительное снижение количества нормохромных нейроцитов за счет повышения количества гипохромных клеток стриопаллидарной системы. Нормохромные нейроциты составляют в в бледном шаре 61,25%, что на 0,87% ниже контроля соответственно. Количество гиперхромных нейроцитов практически не отличается от контрольных значений и составляет 22,14% в бледном шаре. Гипохромные нейроциты бледном шаре составляют 15,32%, что на 2,27% соответственно выше уровня контроля.

Количество пикноморфных форм нейроцитов бледном шаре не превышает уровень контрольных значений и составляет 0,78% соответственно. Клетки-тени в бледном шаре составляют 0,51%.

Общее количество глии в бледном шаре составило 129,5% соответственно. Количество сателлитной глии стриопаллидарной системы по сравнению с контролем изменялось незначительно.

Через 1,5 г. после облучения с мощностью дозы 100 сГр/ч большинство нейронов бледного шара имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Спустя 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 100 сГр/ч анализ тинкториальных свойств нейронов стриопаллидарной системы свидетельствует о незначительных изменениях базофильных свойств клеток. В бледном шаре отмечалось преобладание нормохромных нейроцитов, которые составляли 67,08% соответственно. В бледном шаре гиперхромные нейроциты составляли 21,19%, а гипохромные – 10,36%.

Количество пикноморфных нейроцитов в бледном шаре достигало значений 0,79% соответственно, не превышая, таким образом, уровень контрольных значений. Клетки-тени составили 0,58% в бледном шаре стриопаллидарной системы.

Общее количество глии бледного шара превышало контрольные значения на 18,4% соответственно. Количественные показатели сателлитной глии изменялись незначительно от уровня контроля.

Большинство нейронов бледного шара через 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Через 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч тинкториальные свойства нейроцитов стриопаллидарной системы по сравнению с контрольной группой изменялись незначительно. Нормохромные нейроциты бледного шара составляли 64,79% соответственно, что на 1,73% ниже уровня контроля. Гиперхромные и гипохромные нейроциты бледного шара составляли 20,79 и 13,29% соответственно. Пикноморфные нейроциты и клетки-тени в бледном шаре – 0,74 и 0,39% соответственно.

Спустя 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 250 сГр/ч общее количество глии составило 115,5% в бледном шаре стриопаллидарной системы. Количественные показатели сателлитной глии относительно уровня контроля изменялись незначительно.

Через 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч большинство нейронов бледного шара имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Спустя 1,5 г. после облучения количество нормохромных нейроцитов незначительно превышало уровень контрольных значений и составляло 67,77% в бледном шаре. Отмечалось незначительное снижение количества гиперхромных нейроцитов бледного шара до 20,91%. Гипохромные нейроциты составили 10,11% в бледном шаре.

Количество пикноморфных нейроцитов и клеток-теней не превышало уровень контрольных значений и 0,72 и 0,49% соответственно в бледном шаре.

Общее количество глии бледного шара составило 119,9%, превышая, таким образом, уровень контроля на 19,9% соответственно. Количество клеток-сателлитов превышало контрольные значения на 7,7%. Количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов изменялось незначительно по сравнению с контрольными значениями.

Большинство нейронов бледного шара спустя 1,5 г. после воздействия ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр с мощностью дозы 660 сГр/ч имели обычную форму с четкими границами клеток. Ядро имеет овальную или округлую форму с четкими контурами. Структура ядра однородна.

Спустя 1,5 г. после облучения количество нормохромных нейроцитов незначительно превышало уровень контрольных значений и составляло 67,77% в бледном шаре. Отмечалось незначительное снижение количества гиперхромных нейроцитов бледного шара до 20,91%.

Гипохромные нейроциты составили 10,11% в бледном шаре.

Количество пикноморфных нейроцитов и клеток-теней не превышало уровень контрольных значений и составило 0,72 и 0,49% соответственно в бледном шаре.

Общее количество глии бледного шара составило 119,9%, превышая, таким образом, уровень контроля на 19,9% соответственно. Количество клеток-сателлитов превышало контрольные значения на 7,7% в бледном шаре. Количество клеток-сателлитов, сопровождающих реактивные и дистрофические формы нейроцитов, изменялось незначительно по сравнению с контрольными значениями.

Выводы. Однократное воздействие ионизирующего излучения в дозе 0,5 Гр вызывает в нейроцитах бледного шара комплекс реактивных и дистрофически-некротических изменений, степень выраженности которых пропорциональна мощности дозы и наиболее выражены через 1 сут. после облучения. Через 1,5 года после воздействия ионизирующего излучения повреждающий эффект не обнаруживается. Полученные данные свидетельствуют о преходящих нарушениях моторных функций, опосредованных влиянием бледного шара.

THE CHANGES IN THE NEURAL AND GLIAL COMPOSITION OF THE GLOBUS PALLIDUS IN DIFFERENT TERMS OF THE POST-RADIATION PERIOD

N.A. NASONOVA, N.T. ALEKSEEVA, D.A. SOKOLOV, A.G. KVARATSKHELIYA, N.N. PISAREV, A.A. ZAVARZIN, S.O. FETISOV, L.A. LOPATINA

Voronezh State Burdenko Medical University, 10 Studencheskaya Str., Voronezn, 394036, Russia

Abstract. The research purpose was to study a morphofunctional organization and neuron-glial relationships in globus pallidus in the early and remote periods after exposure to ionizing radiation in a dose of 0.5 Gy with a dose rate of 100, 250 and 660 cGy/h. The experiment was performed on 96 male rats weighing 200-230 g, aged 1.5-2 months. In connection with the experimental conditions, the animals were combined into 16 groups. The material was taken on the 1st day, 6 months later and 1 g after exposure. The object of the study was the cells of the globus pallidus of the rat brain. The survey sections were stained with hematoxylin and eosin, a more detailed characterization of nerve cells was obtained by staining the preparations using the Nissl method. At the same time, counting of neurocytes with various forms of morphological variability was carried out. As a result of the study, it was established that a single exposure to ionizing radiation at a dose of 0.5 Gy causes a complex of reactive and dystrophic-necrotic changes in the globus pallidus neurocytes, the degree of expression of which is proportional to the dose rate and is most pronounced after 1 day after irradiation. After 1.5 years after exposure to ionizing radiation, a damaging effect doesn't detect. The obtained data indicate transitory violations of motor functions mediated by the influence of the pale sphere.

Key words: globus pallidus, ionizing radiation, neurons, nueroglia.

Литература

1. Насонова Н.А., Соколов Д.А. Структурно-функциональная характеристика стриопаллидарной системы при облучении ионизирующим излучением в малых дозах // Журнал анатомии и гистопатологии. 2013. Т. 2, № 1. С. 43–45.

2. Гундарова О.П., Федоров В.П., Кварацхелия А.Г. Изучение биофизических основ реакции нейронов мозжечка на малые радиационные воздействия // Журнал анатомии и гистопатологии. 2014. Т. 3, № 4. С. 19–24.

References

1. Nasonova NA, Sokolov DA. Strukturno-funkcional'naya harakteristika striopallidarnoj sistemy pri obluchenii ioniziruyushchim izlucheniem v malyh dozah [Structural-functional characteristics of striopallidarnoy system under irradiation with ionizing radiation in small doses]. ZHurnal anatomii i gistopatologii. 2013;2(1):43-5. Russian.

2. Gundarova OP, Fedorov VP, Kvarackheliya AG. Izuchenie biofizicheskih osnov reakcii nejronov mozzhechka na malye radiacionnye vozdejstviya [The study of the biophysical bases of reactions of neurons of the cerebellum for small radiation exposure]. ZHurnal anatomii i gistopatologii. 2014;3(4):19-24. Russian.

3. Гундарова О.П. Структурно-функциональное обоснование психоневрологических нарушений у ликвидаторов радиационных аварий // Морфология. 2016. Т. 149, № 3. С. 68–69.

4. Ильичева В.Н. Сравнительная характеристика влияния малых доз ионизирующего излучения на проницаемость микрососудов различных зон коры головного мозга // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18, № 2. С. 251–253.

5. Ушаков И.Б., Федоров В.П., Афанасьев Р.В. Нейроморфологические эффекты малых доз ионизирующих излучений // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2012. Т. 46, № 2. С. 16–20.

6. Hauber W., Lutz S., Münkle M. The effects of globus pallidus lesions on dopamine-dependent motor behaviour in rats // Neuroscience. 1998. Vol. 86(1). P. 147–157.

7. Medina L., Abellán A., Vicario A., Desfilis E. Evolutionary and developmental contributions for understanding the organization of the basal ganglia // Brain Behav Evol. 2014. Vol. 83(2). P. 112–125. DOI: 10.1159/000357832

8. Singh-Bains M.K., Waldvogel H.J., Faull R.L. The role of the human globus pallidus in Huntington's disease // Brain Pathol. 2016. Vol. 26(6). P. 741–751. DOI: 10.1111/bpa.12429

3. Gundarova OP. Strukturno-funkcional'noe obosnovanie psihonevrologicheskih narushenij u likvidatorov radiacionnyh avarij [Structural and functional justification of psychoneurological disorders in liquidators of radiation accidents]. Morfologiya. 2016;149(3):68-9. Russian.

4. Il'icheva VN. Sravnitel'naya harakteristika vliyaniya malyh doz ioniziruyushchego izlucheniya na pronicaemost' mikrososudov razlichnyh zon kory golovnogo mozga [Comparative characteristics of the effect of low doses of ionizing radiation on the permeability of microvessels in different areas of the cerebral cortex]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2011;18(2):251-3. Russian.

5. Ushakov IB, Fedorov VP, Afanas'ev RV. Nejromorfologicheskie ehffekty malyh doz ioniziruyushchih izluchenij [Neuromorphological effects of low doses of ionizing radiation]. Aviakosmicheskaya i ehkologicheskaya medicina. 2012;46(2):16-20. Russian.

6. Hauber W, Lutz S, Münkle M. The effects of globus pallidus lesions on dopamine-dependent motor behaviour in rats. Neuroscience. 1998;86(1):147-57.

7. Medina L, Abellán A, Vicario A, Desfilis E. Evolutionary and developmental contributions for understanding the organization of the basal ganglia. Brain Behav Evol. 2014;83(2):112-25.
DOI: 10.1159/000357832

8. Singh-Bains MK, Waldvogel HJ, Faull RL. The role of the human globus pallidus in Huntington's disease. Brain Pathol. 2016;26(6):741-51.
DOI: 10.1111/bpa.12429

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 194–197
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 194–197

УДК: 611.018:3787147:004

ПЕРЕХОД К ПРЕПОДАВАНИЮ ГИСТОЛОГИИ НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ *WHOLE-SLIDE IMAGING*: ТЕХНИЧЕСКИЕ И ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

А.В. ПАВЛОВ, Е.А. КРАЙНОВА, С.А. КОСТРОВ, О.А. ФОКАНОВА, Т.В. КОРАБЛЕВА

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Революционная ул., д. 5, Ярославль, Ярославская обл., 150000, Россия, e-mail: pavlov@ysmu.ru

Аннотация. Целью работы явилось рассмотрение основных технических и организационных моментов, возникающих в ходе практической реализации проекта по внедрению технологии WSI (*whole-slide imaging*) в учебный процесс на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Ярославского государственного медицинского университета в качестве реальной альтернативы традиционной световой микроскопии. Цифровые *WSI*-коллекции создаются с помощью сканера гистологических препаратов *OLYMPUS VS*120-S5. Формирование коллекций высококачественных цифровых копий гистологических препаратов является одним из наиболее трудоемких этапов проекта с позиции высоких требований, предъявляемых к получению «идеальной» структуры нормального органа (ткани), предлагаемой для изучения студентам (качественная фиксация образцов и окраска срезов, отсутствие артефактов, равномерная резкость всех участков препарата).

Для навигации по базовой коллекции цифровых слайдов разработана оригинальная компьютерная программа (электронный практикум), позволяющая проводить виртуальную микроскопию в разных режимах (демонстрация, практикум, экзамен). Цифровой контент локализован на центральном сервере локальной сети университета, работа на терминалах пользователей (технология «тонкий клиент») производится по протоколу удаленного доступа с помощью программы *OLYMPUS OlyVIA*. Предложены варианты технической модернизации учебных помещений и оптимальных схем интеграции технологии *WSI* в существующую структуру преподавания медицинской гистологии (базовый и целевой уровни).

Ключевые слова: гистология, преподавание, цифровые технологии, виртуальная микроскопия.

Введение. Начиная с XIX века световая микроскопия является классическим инструментом для преподавания гистологии и гистопатологии. Однако на протяжении последнего десятилетия в результате интенсивного развития цифровых телемедицинских технологий создано новое поколение роботизированных устройств – сканеров гистологических препаратов, способных создать их качественные оцифрованные копии. Система сканирует весь слайд целиком при требуемом разрешении, отдельные ее компоненты (микроскоп, моторизованный предметный столик, персональный компьютер, программное обеспечение) оптимально скоординированы между собой, режимы работы в интегрированном фокусе обеспечивают четкость изображения, получаемые отдельные снимки автоматически сшиваются в один большой файл («виртуальный слайд»). Данная методика цифровой визуализации микрообъектов в литературе получила название технологии *WSI* (*whole-slide imaging*) [4,6].

Проводимая на компьютере навигация по полученным подобным образом оцифрованным слайдам (виртуальная микроскопия), способна полностью воспроизвести процесс исследования гистологических препаратов с помощью светового микроскопа: изучаемые участки изображения могут выбираться при перемещении виртуального слайда, увеличиваться или уменьшаться в масштабе с той же эффективностью. Данная технология, обладающая серьезными преимуществами, в XXI веке становится реальной альтернативной традиционной световой микроскопии в сфере преподавания морфологических дисциплин, о чем говорит опыт ее успешной реализации в университетах Европы и США [5,7,8]

На кафедрах гистологии ряда отечественных медицинских вузов в последние годы также проводятся разработки в этом направлении, перспективы использования виртуальной микроскопии в преподавании активно обсуждаются на авторитетных всероссийских научных конференциях («X Бабухинские чтения в Орле», 2017; «Гистогенез, реактивность и регенерация тканей», ВМА им. С.М.Кирова, 2018). Однако повсеместно преподавание предмета продол-

жает строиться на основе визуализации тканевых структур с помощью световой микроскопии, а оцифрованные микропрепараты используются, как важное дополнение, повышающее наглядность преподавания и доступ студентов к образовательным ресурсам при подготовке к занятиям и экзаменам [1-3].

Цель исследования. В рамках реализации программы создания современной цифровой образовательной среды в Ярославском государственном медицинском университете организована планомерная работа по полномасштабному внедрению виртуальной микроскопии в учебный процесс в качестве реальной альтернативы традиционным методам визуализации микроскопических структур. Целью настоящей работы явилось рассмотрение основных технических и организационных моментов, возникающих в ходе практической реализации проекта.

Результаты и их обсуждение. Выбор технической схемы реализации проекта произведен на основе имеющихся ресурсных возможностей вуза:

1. Цифровой контент локализован на центральном сервере локальной сети университета, работа на терминалах пользователей (технология «тонкий клиент») производится по протоколу удаленного доступа.

2. *WSI*-коллекции гистологических препаратов создаются с помощью сканера гистологических препаратов *VS*120-S5 в формате *OLYMPUS OlyVIA – Virtual Slide Image* (*.vsi*) на базе межкафедральной лаборатории цифровой микроскопии ЯГМУ.

3. Для навигации по базовой коллекции гистологических препаратов создан электронный практикум «Виртуальная гистология для будущих врачей» (*v*.1.0) – первая отечественная разработка, основанная на технологии *WSI*, позволяющая проводить виртуальную микроскопию в разных режимах (демонстрация препаратов, практикум, экзамен);

4. Виртуальная микроскопия на рабочих местах пользователей проводится в режиме удалённого доступа с помощью программы *OLYMPUS OlyVIA* (*v*.2.9), позволяющей также просматривать графические файлы других распространённых форматов (*jpg, tiff* и др.).

Одним из наиболее трудоемких технических этапов является формирование коллекций высококачественных цифровых копий гистологических препаратов. Это связано с высокими требованиями, предъявляемыми к исходным образцам для обеспечения максимальной репрезентативности представления структуры нормального органа (ткани) с дидактических позиций: удачная плоскость и оптимальная толщина среза, качественная окраска, отсутствие артефактов, равномерная резкость всех участков препарата. Поэтому для получения «идеального» цифрового препарата приходится проводить предварительное изучение достаточно большого массива учебных гистологических препаратов и отбор образцов, удовлетворяющих всем вышеуказанным требованиям.

Наряду с разработкой электронного контента для поэтапного перехода от световой к виртуальной микроскопии необходимо проведение технической модернизации учебных помещений:

а) базовый уровень: оснащение каждой учебной комнаты стационарной демонстрационной компьютерной видеосистемой (жидкокристаллический телевизор диаметром экрана 42-50´´, системный блок), подключённой к локальной сети вуза;

б) целевой уровень: дополнительно к этому – создание компьютеризированных рабочих мест (минимум 1 место на 2 обучающихся и 1 рабочее место преподавателя), подключенных по протоколу удаленного доступа через локальную сеть к центральному серверу. В наших условиях каждая из 4 учебных комнат, рассчитанных на 16 обучающихся, оборудована 1 демонстрационной компьютерной видеосистемой и 9 рабочими местами (8 – для студентов и 1 – для преподавателя).

Хотя традиционная организация практических занятий при переходе на работу с виртуальным микроскопом полностью сохраняется (меняется лишь способ визуализации микрообъектив, наиболее соответствующий текущему уровню развития биомедицины), вопрос отработки оптимальных схем интеграции данной технологии в сложившуюся структуру преподавания сохраняет свою актуальность. В ходе реализации проекта успешно апробированы следующие основные варианты:

а) базовый уровень – навигация по виртуальному гистологическому препарату проводится преподавателем с помощью стационарной видеосистемы в демонстрационном режиме, студенты продолжают изучать микроструктуры с помощью световой микроскопии (диагностика препаратов на итоговых занятиях и экзамене осуществляется в традиционном

формате).

б) целевой уровень – полный переход на виртуальное микроскопирование как в демонстрационном режиме (преподаватель), так и при индивидуальной работе обучающихся (режим «Практикум»); диагностика препаратов на итоговых занятиях и экзамене также производится с помощью виртуального микроскопа в режиме «Экзамен».

Одним их позитивных результатов перехода к виртуальной микроскопии является существенное расширение возможностей самостоятельной работы студентов с коллекциями микропрепаратов во внеучебное время, поскольку доступ к ним возможен не только с рабочих мест на кафедре, но и из общевузовских компьютерных классов.

Имеющийся на настоящее время опыт проведения практических занятий весеннего семестра 2018 года со студентами 2 курса лечебного и педиатрического факультетов – разделы «Сердечно-сосудистая система», «Пищеварительная система» (*базовой уровень*) и стоматологического факультета – разделы «Пищеварительная система», «Дыхательная система», «Мочевыделительная и половые системы» (*целевой уровень)* показал достаточную эффективность реализуемого подхода и высокую заинтересованность обучающихся в использовании данной технологии.

TEACHING HISTOLOGY ON THE BASIS OF WHOLE-SLIDE IMAGING TECHNOLOGY: TECHNICAL AND ORGANIZATIONAL ASPECTS

A.V. PAVLOV, E.A. KRAYNOVA, S.A.KOSTROV, O.A.FOKANOVA, T.V. KORABLEVA

Yaroslavl State Medical University, Revolutionary Str., 5, Yaroslavl, Yaroslavl region, 150000, Russia, e-mail: pavlov@ysmu.ru

Abstract. The purpose of work was to consider the main technical and organizational aspects arising during implementation of the project on introduction of WSI technology in educational process at Department of Histology, Cytology and Embryology of the Yaroslavl State Medical University as a real alternative of traditional light microscopy. Digital WSI collections are created by means of the histologic scanner OLYMPUS VS120-S5. Formation of collections of high-quality digital copies of tissue specimens is one of the most labor-consuming stages of the project from a position of great demands placed on obtaining "ideal" structure of normal organ (tissue) offered for studying to students (high-quality fixation of samples and coloring of tissue cuts, lack of artifacts, uniform sharpness of all sites of tissue specimen). The original computer program (electronic practical work) allowing to carry out virtual microscopy in the different modes (demonstration, practical work, examination) is developed for navigation on a basic collection of digital slides. Digital content is localized on the central server of university local network, work on terminals of users ("thin client" technology) is performed under the protocol of remote access by means of the OLYMPUS OlyVIA program. Options of technical modernization of educational rooms and optimal schemes of integration of WSI technology into the existing structure of teaching medical histology (basic and target levels) are offered.

Key words: histology, teaching, digital technologies, virtual microscopy.

Литература

1. Волкова Л.В., Соловьева Л.М., Ворожейкин В.М. Преемственность в обучении патологической анатомии и гистологии на современном этапе // Международный журнал экспериментального образования. 2014. №3-2. С. 118–119.

2. Сазонов С.В. Оцифрованные гистологические препараты в обучении и отработке практических навыков и умений при изучении гистологии в медицинском вузе // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2017. Т. 16,

References

1. Volkova LV, Solov'eva LM, Vorozhejkin VM. Preemstvennost' v obuchenii patologicheskoj anatomii i gistologii na sovremennom ehtape [Continuity in the training of pathological anatomy and histology at the present stage]. Mezhdunarodnyj zhurnal ehksperimental'nogo obrazovaniya. 2014;3-2:118-9. Russian.

2. Sazonov SV. Ocifrovannye gistologicheskie preparaty v obuchenii i otrabotke prakticheskih navykov i umenij pri izuchenii gistologii v medicinskom vuze [Digitized histological preparations in training and development of practical skills and abilities in the

№4. С. 127–131.

3. Сазонов С.В., Береснева О.Ю., Курумчина С.Г. Цифровые технологии в изучении гистологии. Вопросы морфологии XXI века. Вып.5. Сборник трудов «Гистогенез, реактивность и регенерация тканей». СПб.: изд. ДЕАН, 2018. С. 303–306.

4. Boyce B.F. Whole slide imaging: uses and limitations for surgical pathology and teaching // Biotech Histochem. 2015. Vol. 90, №5. P. 321–330.

5. Brochhausen C., Winther H.B., Hundt C., Schmitt V.H., Schömer E., Kirkpatrick C.J. A virtual microscope for academic medical education: the pate project // Interact J Med Res. 2015. Vol. 4, №2. P. e11. DOI: 10.2196/ijmr.3495.

6. Bueno G., Fernández-Carrobles M.M., Deniz O., García-Rojo M. New Trends of Emerging Technologies in Digital Pathology // Pathobiology. 2016. Vol. 83, №2-3. P. 61–69.

7. Pantanowitz L., Szymas J., Yagi Y., Wilbur D. Whole slide imaging for educational purposes // J Pathol Inform. 2012. Vol. 3. P. 46.

8. Saco A., Bombi J.A., Garcia A., Ramírez J., Ordi J. Current Status of Whole-Slide Imaging in Education // Pathobiology. 2016. Vol. 83, №2-3. P. 79–88.

study of histology in medical school]. Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2017;16(4):127-31. Russian.

3. Sazonov SV, Beresneva OYU, Kurumchina SG. Cifrovye tekhnologii v izuchenii gistologii. Voprosy morfologii XXI veka. Vyp.5. Sbornik trudov «Gistogenez, reaktivnost' i regeneraciya tkanej» [Digital technology in the study of histology. Questions of morphology of the XXI century. Issue 5. Proceedings of "the Histogenesis, reactance, and regeneration of tissues»]. SPb.: izd.DEAN; 2018. Russian.

4. Boyce BF. Whole slide imaging: uses and limitations for surgical pathology and teaching. Biotech Histochem. 2015;90(5):321-30.

5. Brochhausen C, Winther HB, Hundt C, Schmitt VH, Schömer E, Kirkpatrick CJ. A virtual microscope for academic medical education: the pate project. Interact J Med Res. 2015;4(2):e11. DOI: 10.2196/ijmr.3495.

6. Bueno G, Fernández-Carrobles MM, Deniz O, García-Rojo M. New Trends of Emerging Technologies in Digital Pathology. Pathobiology. 2016; 3(2-3):61-9.

7. Pantanowitz L, Szymas J, Yagi Y, Wilbur D. Whole slide imaging for educational purposes. J Pathol Inform. 2012;3:46.

8. Saco A, Bombi JA, Garcia A, Ramírez J, Ordi J. Current Status of Whole-Slide Imaging in Education. Pathobiology. 2016;83(2-3):79-88.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 198–201

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 198–201

УДК: 612.014.48:611.452:599.323.4

НИЗКОВАКУУМНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ МАСТОЦИТОВ НАДПОЧЕЧНИКА С РАССЧЁТОМ КОЛИЧЕСТВА СЕКРЕТОРНЫХ ГРАНУЛ НА КЛЕТКУ И РЕДКИМ ОБРАЗЦОМ МИТОТИЧЕСКОЙ ЦИТОТОМИИ

К.Г. КЕМОКЛИДЗЕ[*], Н.А. ТЮМИНА[*], Д.А. ПУХОВ[**]

[*]ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Революционная, д. 5, Ярославль, 150000, Россия, e-mail: k_g_k@mail.ru,
[**]Ярославский филиал Физико-технологического института РАН, ул. Университетская, д. 21, Ярославль, 150007, Россия, e-mail: puhov2005@yandex.ru

Аннотация. С помощью сканирующей электронной микроскопии в режиме низкого вакуума исследована популяция тучных клеток (мастоцитов) на поверхности надпочечника крысы (самцы *Wistar, n*=5). Наблюдение проводилось на надпочечниках интактных животных после фиксации глутаровым альдегидом с последующей отмывкой в фосфатном буфере без замораживания, сушки и нанесения электропроводящего покрытия.

Наблюдаемые с помощью сканирующей электронной микроскопии в низком вакууме на поверхности надпочечника мастоциты имеют вид вытянутых пластинок с округлыми или слегка заострёнными краями толщиной 1,2-1,5 мкм и площадью 120-150 мкм^2. В клетках хорошо просматриваются ядра в виде уплощённых эллипсоидов объёмом около 50-60 мкм^3. В области прилегания к поверхности капсулы надпочечника мастоциты образуют короткие и тонкие, но многочисленные адгезионные тяжи.

Клетки плотно заполнены секреторными гранулами. Средний объём отдельной гранулы 0,118±0,03 мкм^3. С учётом определённых размеров клеток, их ядер и секреторных гранул, а также поправок на коэффициент плотности упаковки шаровидных структур (0,74) и объём, занимаемый другими известными внутриклеточными компонентами, в исследованной популяции мастоцитов на каждую клетку приходится до 600 секреторных гранул.

Также удалось обнаружить редкий в нормальных условиях образец митотической цитотомии тучных клеток.

Ключевые слова: низковакуумная сканирующая электронная микроскопия, надпочечник, мастоциты, тучные клетки, секреторные гранулы, пролиферация и митотическая цитотомия мастоцитов.

Введение. Тучные клетки (мастоциты) играют ключевую роль в реакции организма на раздражающие/повреждающие воздействия [1,2,5], поэтому разностороннее их изучение представляет значительный интерес. Современная модификация метода *сканирующей электронной микроскопии* (СЭМ) – *сканирующая электронная микроскопия в низком вакууме* (НВСЭМ), при которой нет необходимости использовать глубокую заморозку, сушку и напыление электропроводящими материалами, что значительно упрощает подготовку образцов и позволяет микроскопировать влажные объекты, для исследования тучных клеток на поверхности органов до сих пор не применялась. Удобным объектом в этом отношении являются тучные клетки капсулы надпочечника [3] (Рис.1а, 2б).

Цель исследования – изучить с помощью НВСЭМ тучные клетки на поверхности надпочечника крысы.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 5 интактных крысах-самцах линии *Wistar* массой 335,3±24,9 г, которых содержали в стандартных условиях вивария. Обращение с животными соответствовало «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08.77) и «Директиве 2010/63/*EU* Европейского парламента и Совета от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях».

Забор надпочечников проводился после эвтаназии животных парами эфира.

Надпочечники фиксировали в 2,5%-м глутаровом альдегиде на фосфатном буфере 24 ч. После фиксации надпочечники отмывали в фосфатном буфере и изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа *Quanta* 3*D*

200*i* (*FEITM*, Нидерланды) в режиме низкого вакуума при давлении водяных паров 70-130 Па без предварительной заморозки, сушки и нанесения электропроводящего покрытия. Для сравнительных иллюстраций световой микроскопии тучных клеток использованы окрашенные толуидиновым синим парафиновые срезы надпочечников крыс того же возраста, полученные идентичным образом.

НВСЭМ проводилась в лаборатории Центра коллективного пользования научным оборудованием «Диагностика микро- и наноструктур» Ярославского филиала Физико-технологического института РАН.

Результаты и их обсуждение. Наблюдаемые с помощью НВСЭМ на поверхности надпочечника мастоциты имеют вид вытянутых пластинок с округлыми или слегка заострёнными краями толщиной 1,2-1,5 мкм и площадью 120-150 мкм^2. В клетках хорошо просматриваются ядра в виде уплощённых эллипсоидов объёмом около 50-60 мкм^3. Клетки плотно заполнены шаровидными секреторными гранулами (Рис. 1-3). Средний объём отдельной гранулы 0,118±0,03 мкм^3.

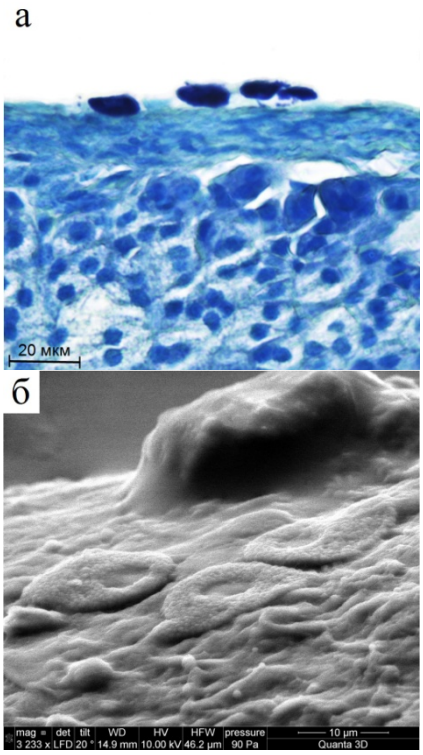


Рис. 1. Группы тучных клеток на поверхности надпочечника взрослой крысы. а) световая микроскопия (окраска толуидиновым синим, об. 40х). б) низковакуумная сканирующая электронная микроскопия

В области прилегания к поверхности капсулы надпочечника мастоциты образуют короткие и тонкие, но многочисленные адгезионные тяжи (рис. 2б).

Архитектоника секреторных гранул мастоцитов напрямую связана с особенностями их функционирования, поэтому оценке не только формы и размеров, но и количества гранул при изучении тучных клеток уделяется особое внимание. Выявляемые с помощью НВСЭМ чёткие границы не только самих клеток и секреторных гранул, но и ядер позволяет достаточно точно рассчитать примерное количество секреторных гранул. Исходя из размеров клеток, их ядер и секреторных гранул, а также поправок на коэффициент плотности упаковки шаровидных структур (0,74) [4] и на объём, который должны занимать другие известные внутриклеточные компоненты, можно рассчитать, что в популяции мастоцитов надпочечника на каждую клетку приходится около 600 секреторных гранул.

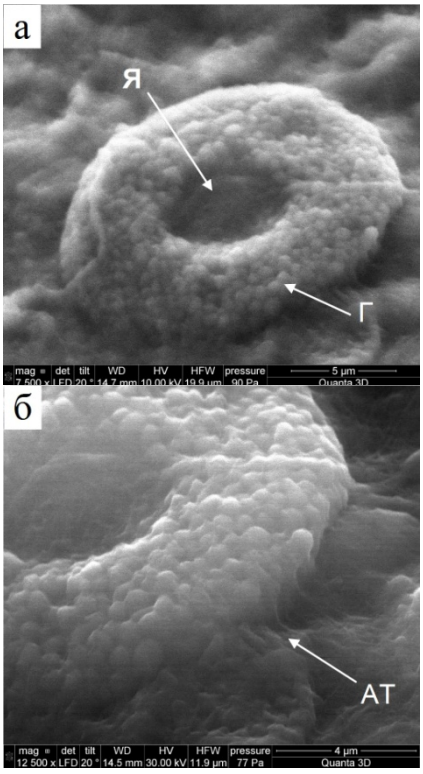


Рис. 2. Низковакуумная сканирующая электронная микроскопия тучной клетки на поверхности надпочечника взрослой крысы. Я – ядро, Г – гранулы, АТ – адгезионные тяжи

С помощью НВСЭМ также удалось обнаружить редко встречающийся в нормальных условиях образец митотической цитотомии мастоцитов в виде тесно прилегающих друг к другу

клеток, разделённых щелевидной перетяжкой (рис. 3б).

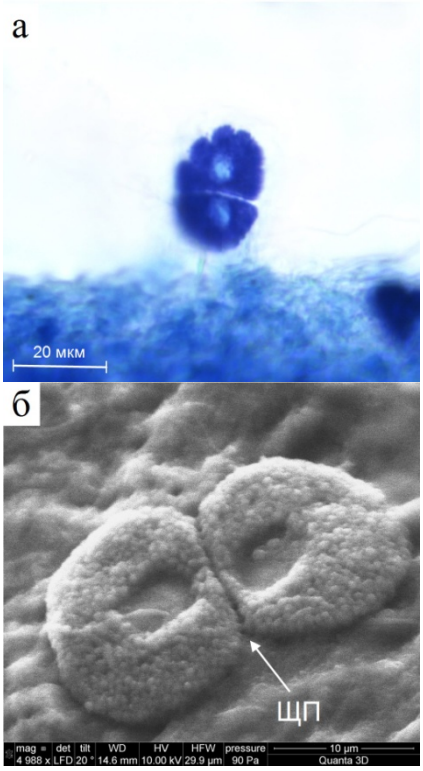


Рис. 3. Цитотомия тучных клеток на поверхности надпочечников взрослых крыс. а) световая микроскопия (окраска толуидиновым синим, об. 40х). б) низковакуумная сканирующая электронная микроскопия. ЩП – щелевидная перетяжка между дочерними клетками

Световая микроскопия, в силу относительно низкой разрешающей способности, не позволяет достоверно рассчитывать количество и размер гранул, находящихся внутри мастоцитов. *Трансмиссионная электронная микроскопия* (ТЭМ) помогает сделать и то и другое, однако, расчет количества гранул в клетке и занимаемого ими объёма по двумерным изображениям, получаемым при этом, представляет сложную математическую задачу и весьма приблизителен [6]. Подготовка образцов для ТЭМ отличается очень высокой сложностью и трудоёмкостью. Классическая СЭМ даёт возможность легко рассчитать реальный объём выступающих на поверхности мастоцитов гранул, однако ядра клеток, занимающие существенную часть их объёма, остаются замаскированными. Этот метод в целом обладает меньшей сложностью и трудоёмкостью, чем ТЭМ, но для образцов мягких тканей требует глубокой заморозки, вакуумной сушки и напыления металла на поверхность. Применённая в настоящем исследовании НВСЭМ позволила произвести расчёт количества секреторных гранул на одну клетку с минимальной подготовкой образцов только в виде фиксации и последующей отмывки.

Заключение. НВСЭМ предоставляет дополнительные возможности для детального изучения тучных клеток. Ввиду чёткого выявления границ самих клеток, их ядер и секреторных гранул она служит удобным инструментом оценки их морфо-функционального состояния.

LOW-VACUUM SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF THE ADRENAL MAST CELL WITH CALCULATION OF THE AMOUNT OF SECRETORY GRANULES PER CELL AND A RARE PATTERN OF MITOTIC CYTOTOMY

K.G. KEMOKLIDZE*, N.A. TIUMINA*, D.E. PUKHOV**

**Yaroslavl State Medical University, 5, Revolutsionnaya Str., Yaroslavl, 150000, Russia, e-mail: k_g_k@mail.ru*
***Yaroslavl Branch at the Institute of Physics and Technology of the Russian Academy of Sciences, 21, Universitetskaya Str., Yaroslavl, 150007 Yaroslavl, 150007, Russia, e-mail: puhov2005@yandex.ru*

Abstract. A population of mast cells (mastocytes) on the surface of the adrenal gland of the rats (Wistar males, *n*=5) was studied using low-vacuum scanning electron microscopy (LVSEM). The observation was carried out on the adrenal glands of intact animals after fixation with glutaraldehyde followed by washing in phosphate buffer without freezing, drying and applying an electrically conductive coating. Observed with LVSEM on the surface of the adrenal gland, the mastocytes have an appearance of elongated laminae with rounded or slightly pointed edges 1.2-1.5 μm thick and 120-150 μm^2 in area. Nuclei in the form of flattened ellipsoids with a volume of about 55 μm^3 can be clearly seen in the cells. Mastocytes form short and thin, but numerous adhesive bands in the area of adherence to the surface of the adrenal gland capsule.

The cells are densely filled with secretory granules. The average volume of an individual granule is 0.118±0.03 μm^3. Given the size of the cells, their nuclei and secretory granules, as well as corrections for the

packing density coefficient of globular structures (0.74) and the volume occupied by other known intracellular components, up to 600 secretory granules per cell are in the examined population of mastocytes.

A pattern of mitotic cytotomy of the mast cells, rare under normal conditions, also was found.

Key words: low-vacuum scanning electron microscopy, adrenal gland, mast cells, mastocytes, secretory granules, proliferation and mitotic cytotomy of mast cells.

Литература

1. Быков В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток // Морфология. 1999. Т. 115, №2. С. 64–72.

2. Быков В.Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток // Морфология. 2000. Т. 117, №1. С. 86–92.

3. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Динамика активности тучных клеток в надпочечниках крысы после частичной лазерной деструкции одного из них // Журнал анатомии и гистопатологии. 2016. Т. 5, №1. С. 32–37.

4. Слоэн Н.Дж.А. Упаковка шаров // В мире науки. 1984. Т. 3. С. 72–83.

5. Da Silva E.Z., Jamur M.C., Oliver C. Mast Cell Function: a New Vision of an Old Cell // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2014. Vol. 62(10). P. 698–738.

6. Křepelová-Dror M., Hammel I., Meilijson I. Statistical Analysis of the Quantal Basis of Secretory Granule Formation // Microscopy Research and Technique. 2014. Vol. 77(1). P. 1–10.

References

1. Bykov BL. Sekretornye mekhanizmy i sekretornye produkty tuchnyh kletok [Secretory mechanisms and secretory products of fat cells]. Morfologiya. 1999;115(2):64-72. Russian.

2. Bykov BL. Razvitie i geterogennost' tuchnyh kletok [Development and heterogeneity of mast cells]. Morfologiya. 2000;117(1):86-92. Russian.

3. Kemoklidze KG, Tyumina NA. Dinamika aktivnosti tuchnyh kletok v nadpochechnikah krysy posle chastichnoj lazernoj destrukcii odnogo iz nih [Dynamics of activity of mast cells in rat adrenal glands after partial laser destruction of one of them]. ZHurnal anatomii i gistopatologii. 2016;5(1):32-7. Russian.

4. Sloehn NDzhA. Upakovka sharov [Packing balls]. V mire nauki. 1984;3:72-83. Russian.

5. Da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast Cell Function: a New Vision of an Old Cell. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 2014;62(10):698-738.

6. Křepelová-Dror M, Hammel I, Meilijson I. Statistical Analysis of the Quantal Basis of Secretory Granule Formation. Microscopy Research and Technique. 2014;77(1):1-10.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 202–208
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 202–208

УДК: 611.441

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ И СЕКРЕТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ТИРОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

А.В. ПАВЛОВ*, А.В. БЕЗДЕНЕЖНЫХ**

**ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Революционная ул., д. 5, Ярославль, Ярославская обл., 150000, Россия, e-mail: pavlov@ysmu.ru*
***ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, Нижний Новгород, Нижегородская обл., 603005, Россия, e-mail: natom311@gmail.com*

Аннотация. На поперечных срезах правой доли щитовидной железы после иммуногистохимической окраски моноклональными антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток и поликлональными антителами к антигену тиреоглобулина оценивалась пролиферативная и секреторная активность тироцитов. Об интенсивности выведения тиреоидных гормонов судили на основе подсчета резорбционных вакуолей. Исследовались животные в интактной группе (16 собак-самцов) и эксперименте (64 животных), у которых в результате индивидуально дозированной двигательной активности во время однократных и многократных тренировок (бег на ленте тредмилла) формировалось различное морфофункциональное состояние органа. В работе показано, что индекс пролиферативной активности всех групп экспериментальных животных ниже, чем в контроле, а индекс секреторной активности выше. При различной продолжительности бега происходит достоверное снижение общего количества резорбционных вакуолей для всех групп животных; увеличение количества тиреоглобулин-позитивных клеток всегда сопровождается увеличением количества резорбционных вакуолей. Выявлено, что физические нагрузки приводят к снижению пролиферативной активности тироцитов, увеличению синтеза тиреоглобулина и уменьшению количества резорбционных вакуолей, количество повторений нагрузок и продолжительность бега влияли на выраженность этих реакций.

Ключевые слова: щитовидная железа, иммуногистохимия, *PCNA*, пролиферация, тироглобулин, резорбционные вакуоли, двигательная активность, мышечные нагрузки.

Введение. *Пролиферативная активность* (ПА) тироцитов *щитовидной железы* (ЩЖ) является проявлением физиологической регенерации на клеточном уровне, при этом число клеток, находящихся в состоянии митотического деления в норме у взрослых особей невелико (12% в год или 4% ядер фолликулярных клеток не в стадии *G0*), а их локализация хаотична [3]. Изменения ПА происходят в регенерирующей железе [8], зависят от возраста [4] и сезонных влияний [5]. Резкое повышение пролиферации характерно для патологических состояний [15]. Мы не нашли научных публикаций, свидетельствующих о влиянии физических нагрузок на пролиферацию в ЩЖ. Известно, что пролиферация *тироцитов контролируется центральными* (ТТГ) и местными механизмами (факторы роста, цитокины), при этом, важно разграничивать физиологическую (регенерация) и патологическую (опухолевый рост) пролиферацию органа [10].

Существует более 60 маркеров визуализации и оценки ПА. Пролиферирующие клетки, находящиеся на разных стадиях митотического цикла, определяют иммуногистохимически (*Ki*-67, *PCNA, p*105, *CDK*-2, *cdE*) на сегодняшний день этот метод является наиболее информативным и достоверным [9]. При маркировке пулов клеток различных стадий «наибольшим диапазоном» [7] обладает ядерный антиген пролиферирующих клеток – *PCNA* (*proliferating cell nuclear antigen*) – белок массой 29 кДа. С его помощью определяют не только клетки, вступившие в митоз, но и клетки, находящиеся в процессе подготовки к делению, что позволяет оценить их пролиферативный потенциал.

Изменения тиреоглобулина в коллоиде фолликулов ЩЖ тесно коррелируют с фазами накопления и эвакуации тиреоидных гормонов [11]. В физиологических условиях этапы синтеза, накопления и секреции тиреоидных гормонов протекают в тироцитах практически одновременно и сбалансированно. Увеличение количества тиреоглобулин-продуцирующих клеток или появление *резорбционных вакуолей* (РВ) являются отражением гиперфункции как ЩЖ в

целом, так и её отдельных структурно-функциональных единиц. Взаимоотношение пролиферативной активности, синтеза и резорбции тироглобулина весьма сложно и опосредуется целой группой регулирующих факторов ЩЖ [14].

Цель исследования – на основании анализа ядерного антигена пролиферирующих клеток и тиреоглобулин-продуцирующих клеток после иммуногистохимической маркировки и подсчета резорбционных вакуолей выяснить исходный уровень пролиферации и секреторной активности тироцитов щитовидной железы собак и его изменения при различных режимах двигательной активности.

Материалы и методы исследования. Животные (собаки-самцы, возраста от 1,5 до 2-х лет) содержались в виварии на стандартном рационе питания сроком не менее одного месяца, при этом фиксировалась продолжительность светового дня, температура окружающей среды. Исследования на животных проведены в соответствии с приказами Минвуза СССР № 742 от 13.11.84 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Взятие материала осуществляли под внутривенным общим комбинированным наркозом (2% ромитар, «золетил-50») в стандартное время суток – 10-12 часов.

Контрольная группа представлена 16 животными. Экспериментальные группы получали однократные и многократные нагрузки (бег на ленте тредмила со скоростью 15 км/час) при динамическом контроле *частоты сердечных сокращений* (ЧСС). В контрольной группе средняя ЧСС составила 125±6,92 уд/мин. Однократные нагрузки представлены тремя видами воздействий: тренирующего характера – 8 животных, время бега 27,76±4,67 мин, ЧСС 205±10,15 уд/мин; стартового характера – 11 собак, время бега 8,25±0,73 мин при ЧСС 201±13,47 уд/мин; предельными нагрузками – 12 животных 73,14±14,97 мин, ЧСС 191±6,41 уд/мин. Многократные воздействия были в виде циклов тренировок, каждый из которых состоял из тренирующих (первый этап) и стартовых нагрузок (второй этап) и представлены тремя группами. Первая группа (12 животных) – общее количество нагрузок 23,25±0,66 – после первого этапа тренирующих *индивидуально дозированных двигательных нагрузок* (ИДДН) (время бега 45,64±1,83 мин, ЧСС 169±1,85 уд/мин) получала воздействия стартового характера (время бега 11,81±0,38 мин, ЧСС 168±3,30 уд/мин). Во второй группе (10 собак) – общее количество нагрузок 55,50+2,45 – тренирующими нагрузками и стартовыми ИДДН моделировали последовательно три цикла воздействий – время бега 64,02±3,4 мин и ЧСС 168±2,35 уд/мин (при стартовых нагрузках среднее время 10,4±0,27 мин, ЧСС 172±2,38 уд/мин). В третьей группе у 11 животных формировали четыре цикла (общее количество нагрузок 70,54±2,52), время бега составило 71,3±2,56 мин при средней ЧСС 173,59±2,56 уд/мин (среднее время бега при стартовых нагрузках 9,85±0,25 мин, ЧСС 183,33±2,57 уд/мин).

Для оценки пролиферативной и секреторной активности тироцитов с помощью моно- и поликлональных антител (*Dako cytomation*, Швеция) на гистологических препаратах серийных поперечных срезов парафин-целлоидиновых блоков (фиксатор – 10% нейтральный формалин) толщиной 3 мкм, изготовленных с помощью роторного микротома (*ERM*-230*L*) из правой доли ЩЖ, в ядрах клеток определялся ядерный антиген пролиферирующих клеток (*PCNA*, клон *G*1) и тиреоглобулин. Измерения проводили в 40 полях зрения (общее увеличение 600) по всей поверхности среза, в каждом из которых оценивали число РВ, общее количество клеток, *PCNA* и ТГ маркированных, на основании этих данных вычисляли *индекс пролиферативной активности* (ИПА), *индекс секреторной активности* (ИСА), коэффициенты резорбции.

1) *Индекс пролиферативной активности* (ИПА) количественная оценка уровеня пролиферации клеток, то есть число антиген-позитивных клеток от общего числа клеток, выраженное в процентах.

2) *Индекс секреторной активности* (ИСА) тироцитов рассчитывался как соотношение окрашенных *тиреоглобулин-позитивных* (ТГ+) клеток к общему количеству проанализированных клеток (%).

5) *Общее количество РВ* на препарате (ОКРВ) позволяло рассчитать коэффициенты соотношений РВ и *общего количества клеток* (ОКРВ/ОКК), соотношений *общего количества РВ и количества тиреоглобулин-позитивных клеток* (ОКРВ/ТГ+).

В программе «*AnalystSoft Inc., StatPlus*, версия 6 (*www.analystsoft.com*)» получали данные описательной статистики, оценивали нормальность распределения, проводили сравнение показателей разных групп (*t*-критерий Стьюдента и линейный коэффициент корреляции *r*-Пирсона).

Результаты и их обсуждение. Клетка в стадии пролиферации (различные стадии митоза) обладает крупным округлым ядром, содержащим ядрышки хроматина. При положительной иммуногистохимической реакции на *PCNA* ядро окрашивалось в коричневый цвет, видимый на светооптическом уровне (рис. 1).

Рис. 2. Иммуногистохимическая окраска на тиреоглобулин, гематоксилин. Увеличение 630. (1) – ядро фолликулярного тироцита; (2) – ядро тироцита в стадии пролиферации; (3) – резорбционная вакуоль, (4) – тироцит в стадии секреции, (5) –коллоид в полости фолликула

Таблица 1

Показатели пролиферативной и секреторной активности у животных различных групп, $\overline{X} \pm S_{\overline{x}}$

	Группа\ Показатель	*PCNA*+, клеток	ИПА, %	ТГ+, клеток	ИСА, %
	Контроль (*n*=16)	1,10±0,06	2,26±0,12	153±6,16	11,74±0,52
Однократные нагрузки	Тренирующие (*n*=8)	1,05±0,08	2,27±0,18	117±10,99#	12,45±0,65
	Стартовые (*n*=11)	0,91±0,07#	1,86±0,14#	143±8,59	12,54±0,67
	Предельные (*n*=12)	0,88±0,05*	1,54±0,10*	150±6,97	11,10±0,47
Многократные нагрузки	*Многократные 1* (*n*=12)	0,77±0,05*	1,59±0,11*	121±13,02#	13,77±0,79#
	Многократные 2 (*n*=10)	0,57±0,05*	1,16±0,11*	138±6,10	12,11±0,30
	Многократные 3 (*n*=11)	0,68±0,04*	1,26±0,07*	139±10,80	12,34±0,39

Примечание: * – *p*<0,01 в отношении контроля; # – *p*<0,05 в отношении контроля; *PCNA*+ – клетки содержащие ядерный антиген пролиферирующих клеток, ИПА – индекс пролиферативной активности, ТГ+ тиреоглобулин-позитивные клетки, ИСА – индекс секреторной активности

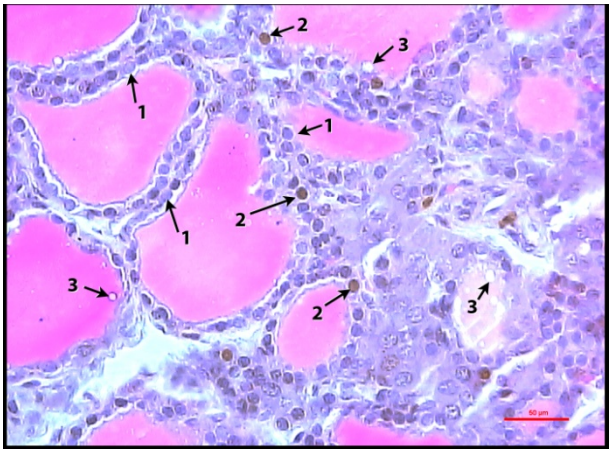


Рис. 1. Тироциты после иммуногистохимической окраски *PCNA,* гематоксилин-эозин. Увеличение 630

ИПА всех групп экспериментальных животных ниже, чем в контроле (табл. 1). При этом в группе животных с однократными тренирующими нагрузками (оптимальное функционирование кардиореспираторной системы) его изменения незначительны, в группах с однократными стартовыми нагрузками (кратковременный бег) уменьшены на 17,70%, а предельные нагрузки (продолжительный бег) приводят к резкому снижению 31,85%. При тренирующих нагрузках ИПА достоверно отличается (*p*<0,01) в группах *предельные нагрузки* (бег до отказа) и всех группах с *многократными нагрузками* 1, 2, 3; при стартовых нагрузках (*p*<0,01) и предельных нагрузках (*p*<0,05) отличия выявлены в отношении групп *многократные* 2 и 3. Многократные продолжительные тренирующие нагрузки оказывают существенное влияние на функциональное состояние клеток, уменьшая пролиферацию в группах «*многократные 2*» (общее количество нагрузок 55,50+2,45) на 48,67% и «*многократные 3*» на 44,25% (общее количество нагрузок 70,54±2,52), в тоже время сочетание тренирующих и стартовых нагрузок формирует менее выраженное снижение в группе «*многократные 1*» (общее количество нагрузок 23,25±0,66) – на 29,65%. При многократных тренировках показатели группы *многократные 1* достоверно отличаются

(p<0,01) от значений групп *многократные 2* и *многократные 3*, отличия между группами *многократные 2 и 3* не выявлены (p=0,45). Проведенный корреляционный анализ выявил достоверные положительные взаимосвязи (p<0,05) общего количества клеток, количества *PCNA*-позитивных клеток.

Функциональная активность ЩЖ определяется уровнем секреции тироцитов как свободной, так и связанной (тиреоглобулин) форм гормона. На светооптическом уровне иммуногистохимическая реакция на тиреоглобулин представлена гранулами секрета в цитоплазме клеток и коллоидом в просвете фолликула, окрашенными в коричневый цвет (рис. 2). Изменение плотности коллоида при увеличении секреторной активности на уровне фолликула, сопровождается увеличением количества резорбционных вакуолей.

Таблица 2

Показатели резорбционной активности и её интенсивности у животных различных групп, $\overline{X} \pm S_{\bar{x}}$

Группа\Показатель		ОКРВ, шт.	ОКРВ/ОКК, усл.ед.	ОКРВ/ТГ+, усл.ед.
	Контроль (n=16)	26,50±2,51	2,01±0,17	16,97±1,35
Однократные нагрузки	Тренирующие (n=8)	9,75±1,93*	0,97±0,13*	7,78±1,13*
	Стартовые (n=11)	14,6±2,20*	1,20±0,14*	9,66±1,16*
	Предельные (n=12)	27,07±1,99	2,00±0,15	17,94±0,91
Многократные нагрузки	*Многократные 1* (n=12)	13,67±2,84*	1,19±0,19*	9,52±1,74*
	Многократные 2 (n=10)	13,80±1,60*	1,16±0,10*	9,69±0,93*
	Многократные 3 (n=11)	13,27±2,11*	1,05±0,15*	8,73±1,22*

Примечание: p<0,05 * – в отношении контроля; ОКРВ – общее количество РВ в препарате, коэффициенты соотношений с общем количеством клеток – ОКРВ/ОКК, количеством тиреоглобулин-позитивных клеток – ОКРВ/ТГ+

Среднее количество проанализированных клеток в исследованных группах составило 1148±59 кл. Количество *тиреоглобулин-позитивных* (ТГ+) клеток в экспериментальных группах было ниже, чем в контроле (табл. 1). Статистически достоверные отличия (p<0,05) выявлены в группах с однократными тренирующими и первой группой с многократными нагрузками. Следует отметить, что при этом ИСА всех экспериментальных групп, за исключением группы с предельными нагрузками был недостоверно выше, чем в контроле.

При ИДДН различной продолжительности происходит достоверное снижение общего количества резорбционных вакуолей для всех групп животных, за исключением группы с предельными нагрузками (табл. 2). Так, при однократных тренирующих нагрузках это снижение максимально (63,20%), при стартовых менее выражено (44,90%), при предельных нагрузках показатели близки к контролю. Повторяющиеся многократные воздействия имеют практически сходную картину и в группах 1, 2 и 3 их уменьшение составляет 48,41%, 47,92% и 49,92% соответственно. Максимальная длительность бега вызывает увеличение резорбции коллоида, в то время как кратковременные воздействия (тренирующие и стартовые) не позволяют среагировать системе. Повторяющиеся многократные воздействия (во всех группах) позволяют системе сформировать баланс между продукцией и резорбцией коллоида. Это снижение выявлено и для коэффициентов отношения количества резорбционных вакуолей к общему числу проанализированных клеток и к тиреоглобулин-позитивным клеткам.

Выявлено изменение количества достоверных корреляционных связей между показателями, отражающими секреторную и резорбционную активность. Двигательная активность, как при однократных, так и повторяющихся многократных циклических нагрузках приводит к формированию связи, не характерной для контроля, когда на фоне увеличения общего количества клеток растет и количество ТГ+ клеток (p<0,05, от r=0,66 до r=0,93). В группе с предельными нагрузками эта зависимость статистически не достоверна. Во всех группах выявлена положительная линейная зависимость между *количеством резорбционных вакуолей* (ОКРВ) и числом *тиреоглобулин-продуцирующих* (ТГ+) клеток (p<0,05, от r=0,60 до r=0,91). Таким образом, увеличение тиреоглобулин-позитивных клеток при ИДДН всегда сопровождается и увеличением количества резорбционных вакуолей.

Заключение. Физические нагрузки оказывают целостное воздействие на организм экспериментальных животных [2], предъявляя повышенные требования, в том числе, к эндок-

ринной системе. Нами показано, что пролиферативная активность тироцитов напрямую зависит от характера физической нагрузки, её кратности, продолжительности бега и отражает состояние репаративных процессов в тироцитах. Однократные тренирующие нагрузки вызывают незначительное уменьшение ИПА, в то время как при кратковременных стартовых и предельных нагрузках снижение более выражено, несмотря на различия в продолжительности времени бега в 10 раз. Можно предположить, что информационная составляющая кратковременных недостаточных и долговременных избыточных однократных воздействий однонаправлено влияют на пролиферацию тироцитов. Многократные тренирующие воздействия (от одного до трех месяцев) характеризовались наибольшим снижением ИПА, что вероятно служило отражением снижения восстановительных ресурсов железы. Применение стартовых нагрузок на фоне цикла тренирующих воздействий (*многократные 1*) стимулировали пролиферацию тироцитов,

Известен эффект сложных, в том числе, и опосредованных влияний тиреоглобулина на пролиферацию тиреоидных клеток [12,13] по данным литературы количество тиреоглобулин-продуцирующих клеток в условиях стресса уменьшается [6]. Нами показано, что физические нагрузки приводят к росту индекса секреторной активности тироцитов, но снижению ИПА. Наиболее вероятными механизмами наблюдаемого снижения пролиферативной активности тироцитов при разных режимах физической нагрузки могут являться развитие конкурентных взаимоотношений внутриклеточных путей, обеспечивающих метаболизм тиреоидиных гормонов и синтетических процессов, связанных с подготовкой клетки к делению [8], а также тормозящий эффект на пролиферацию повышенного уровня катехоламинов в условиях развития стрессовой реакции [11]. Корреляционным анализом подтверждено, что увеличение тиреоглобулин-позитивных клеток при ИДДН всегда сопровождается увеличением количества резорбционных вакуолей.

Традиционно образование РВ в ЩЖ связывают с «аварийным» способом экскреции коллоида, характерным для желез с невысокой активностью фолликулярного эпителия [1]. Количество РВ при всех видах ИДДН достоверно снижено, причины этого, по нашему мнению, различны и отражают реакцию ЩЖ на параметры бега. Возможно, при тренирующих и стартовых нагрузках преобладает физиологическая резорбция (увеличение количества микроворсинок и эндоцитоз на клеточном уровне), а при предельных нагрузках включаются механизмы активного захвата тиреоглобулина в связи, с чем количество вакуолей незначительно превышают показатели контроля.

При многократных воздействиях количество вакуолей определяется сформировавшимся балансом между синтезом и резорбцией тиреоглобулина.

Таким образом, *индивидуально дозированные двигательные нагрузки* снижают пролиферативную активность тироцитов, интенсифицируют процессы, связанные с синтезом тиреоглобулина, но приводят к уменьшению общего количества *резорбционных вакуолей*, при этом количество повторений нагрузок и продолжительность бега влияли на выраженность этих реакций.

PROLIFERATIVE AND SECRETORIAL ACTIVITY OF FOLLICULAR THYROCYTES IN VARIOUS MODES OF MOTOR ACTIVITY

A.V. PAVLOV[*], A.V. BEZDENEZHNYKH[**]

[*]*Yaroslavl State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Revolutionary Str., 5, Yaroslavl, Yaroslavl region, 150000, Russia, e-mail: pavlov@ysmu.ru*
[**]*Volga Medical Research University, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod region, 603005, Russia, e-mail: natom311@gmail.com*

Abstract. In the transverse sections of the right lobe of the thyroid gland, after immune-histochemical staining with monoclonal antibodies to the nuclear antigen of proliferating cells and polyclonal antibodies to the thyroglobulin antigen, the proliferative activity and secretory activity of thyrocytes were evaluated. The intensity of excretion of thyroid hormones was judged on the basis of counting the number of resorption vacuoles. Animals were studied in an intact group (16 male dogs) and experiment (64 animals), which as a result of individually dosed motor activity during single and multiple training (running on the tread-

mill), formed a different morphofunctional state of the organ. The work shows that the index of proliferative activity of all groups of experimental animals is lower than in the control, and the index of secretory activity is higher. A significant reduction in the total number of resorption vacuoles for all experimental animals occurs. An increase in the number of thyroglobulin-positive cells is always accompanied by an increase in the number of resorption vacuoles. It was found that physical loads lead to a decrease in proliferative activity of thyrocytes, an increase in the synthesis of thyroglobulin and a decrease of number of resorption vacuoles, the number of repetitions of loads and the duration of running influenced the severity of these reactions.

Key words: thyroid gland, immune-histochemistry, PCNA, proliferation, thyroglobulin, resorption vacuoles, motor activity, muscular load.

Литература

1. Агеенко К.И., Горбачев А.Л., Шуберт Э.Е. Особенности гистоструктур щитовидной железы у жителей г. Магадана // Фундаментальные исследования. 2011. № 9. С. 191–195.

2. Бирюкова О.В., Стельникова И.Г. Работоспособность при двигательных нагрузках и гипокинезии: монография. Н. Новгород: НижГМА, 2011. 176 с.

3. Быков В.Л. Щитовидная железа. Руководство по гистологии: учебное пособие для студ. мед. вузов и фак.: в 2-х т. / ред. Р.К. Данилов, В.Л. Быков. СПб.: СпецЛит, 2001. Т.2. С. 453–476.

4. Быков В.Л. Гистофизиология щитовидной железы в постнатальном онтогенезе // Арх. анат. 1979. Т. 86, № 3. С. 80–94.

5. Глумова В.А. Щитовидная железа. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / ред. Д.С. Саркисов. М.: Медицина, 1987. С. 320–328.

6. Дегтярь Ю.В., Смирнова Т.С., Шараевская М.В., Капитонов М.Ю. Иммуногистохимическая характеристика щитовидной железы при хроническом стрессе // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2008. Т. 28, № 4. С. 51–54.

7. Лекции по общей патологической анатомии. Учебное пособие / ред. М.А. Пальцев. М.: ММА, 2003. 254 с.

8. Павлов А.В. Пролиферативная и функциональ-

References

1. Ageenko KI, Gorbachev AL, SHubert EHE. Osobennosti gistostruktur shchitovidnoj zhelezy u zhitelej g. Magadana [Features histostructure thyroid gland in residents of Magadan]. Fundamental'nye issledovaniya. 2011;9:191-5. Russian.

2. Biryukova OV, Stel'nikova IG. Rabotosposobnost' pri dvigatel'nyh nagruzkah i gipokinezii: monografiya [Performance under motor loads and hypokinesia: monograph]. N. Novgorod: NizhGMA; 2011. Russian.

3. Быков ВЛ. Щитовидная железа. Руководство по гистологии: учебное пособие для студ. мед. вузов и фак.: в 2-х т. Ред. Р.К. Данилов, В.Л. Быков [Thyroid. Guide to histology: a study guide for a student. honey. universities and FAK.: in 2 t. Red. R. K. Danilov, V. L. Bykov]. СПб.: СпецЛит; 2001. Vol.2. Russian.

4. Bykov VL. Gistofiziologiya shchitovidnoj zhelezy v postnatal'nom ontogeneze [Histophysiology of the thyroid gland in postnatal ontogenesis]. Arh. anat. 1979;86(3):80-94. Russian.

5. Glumova VA. SHCHitovidnaya zheleza. Strukturnye osnovy adaptacii i kompensacii narushennyh funkcij. red. D.S. Sarkisov [Thyroid. Structural basis of adaptation and compensation of disturbed functions. ed. D. S. Sarkisov]. Moscow: Medicina; 1987. Russian.

6. Degtyar' YUV, Smirnova TS, SHaraevskaya MV, Kapitonov MYU. Immunogistohimicheckaya harakteristika shchitovidnoj zhelezy pri hronicheskom stresse [Immunohistochemical characteristics of the thyroid gland in chronic stress]. Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2008;28(4):51-4. Russian.

7. Лекции по общей патологической анатомии. Учебное пособие. ред. М.А. Пальцев [Lectures on General pathological anatomy. Textbook. red. M. A. Fingers]. Moscow: MMA; 2003. Russian.

8. Pavlov AV. Proliferativnaya i funkcional'naya

ная активность паратироцитов и парафолликулярных (С-) клеток в регенерирующих околощитовидных и щитовидной железах: автореф....д-ра мед. наук. М., 1990. 42 с.

aktivnost' paratirocitov i parafollikulyarnyh (C-) kletok v regeneriruyushchih okoloshchitovidnyh i shchitovidnoj zhelezah [Proliferative and functional activity of parathyrocytes and parafollicular (C-) cells in regenerating parathyroid and thyroid glands] [dissertation]. Moscow (Moscow region); 1990. Russian.

9. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство. // Под ред. Д. Э. Коржевского. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: СпецЛит, 2014. 119 с.

9. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie metodov immunogistohimii: rukovodstvo. Pod red. D. EH. Korzhevskogo. 2-e izd., ispr. i dop [9. Theoretical basis and practical application of immunohistochemistry methods: manual. Ed. by D. E. Korzhevsky. 2nd ed., ISPR. and DOP]. SPb.: SpecLit; 2014. Russian.

10. Хмельницкая Н.М. Щитовидная железа. Руководство по гистологии: учебное пособие для студ. мед. вузов и фак. / ред Р.К. Данилов. 2-е изд., испр. и доп. СПб.: СпецЛит, 2010. Т. 1. С. 703–710.

10. Hmel'nickaya NM. SHCHitovidnaya zheleza. Rukovodstvo po gistologii: uchebnoe posobie dlya stud. med. vuzov i fak. red R.K. Danilov. 2-e izd., ispr. i dop [Thyroid. Guide to histology: a study guide for a student. honey. universities and FAK. red R. K. Danilov. 2nd edition, revised and update]. SPb.: SpecLit; 2010. Vol. 1. Russian.

11. Boron W.F., Boulpaep E.L. The Thyroid Gland. Medical Physiology E-Book. Elsevier Health Sciences, 2017. P. 2463–2485.

11. Boron WF, Boulpaep EL. The Thyroid Gland. Medical Physiology E-Book. Elsevier Health Sciences; 2017.

12. Fayet G., Hovsépian S. Isolation of a normal human thyroid cell line: hormonal requirement for thyroglobulin regulation // Thyroid. 2002. Vol. 12, № 7. P. 539–546.

12. Fayet G, Hovsépian S. Isolation of a normal human thyroid cell line: hormonal requirement for thyroglobulin regulation. Thyroid. 2002;12(7):539-46.

13. Hayashi M., Shimonaka M., Matsui K. Proliferative effects of bovine and porcine thyroglobulins on thyroid epithelial cells // Endocr J. 2009. Vol. 56, № 3. P. 509–519.

13. Hayashi M, Shimonaka M, Matsui K. Proliferative effects of bovine and porcine thyroglobulins on thyroid epithelial cells. Endocr J. 2009;56(3):509-19.

14. Jameson J.L., De Groot L.J., de Kretser D.M. Thyroid Regulatory Factors. Endocrinology: Adult and Pediatric. Elsevier Health Sciences, 2016. P. 1297–1321.

14. Jameson JL, De Groot LJ, de Kretser DM. Thyroid Regulatory Factors. Endocrinology: Adult and Pediatric. Elsevier Health Sciences; 2016.

15. Waligórska-Stachura J. Survivin DEx3 as a biomarker of thyroid cancers: A study at the mRNA and protein level // Oncol. Lett. 2017. Vol. 13, № 4. P. 2437–2441.

15. Waligórska-Stachura J. Survivin DEx3 as a biomarker of thyroid cancers: A study at the mRNA and protein level. Oncol. Lett. 2017;13(4):2437-41.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 209–215
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 209–215

Раздел III

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ (03.01.00)

Section III

PHYSICAL AND CHEMICAL BIOLOGY (03.01.00)

УДК: 678.048:615.322:612.67:577.73 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-15930

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРОВ В ГЕРОНТОЛОГИИ

Б.Л. ИХЛОВ

ФГУП «Особое конструкторское бюро «Маяк»,
ул. Данщина, 19, г. Пермь, 614068, Россия, e-mail: officemayak@mail.ru

Аннотация. Теоретически и экспериментально обоснован новый метод в свободно-радикальной теории старения, где мишенью являются не свободные радикалы, а молекулы ДНК, как митохондриальные, так и ядерные; при этом в качестве антиоксидантов предлагаются некоторые радиопротекторы, ранее применяемые для защиты организма от радиационного поражения. Приведен краткий обзор различных стратегий и методов в геронтологии, отмечены их недостатки. В квазикристаллической модели ДНК рассмотрена роль примесных уровней. Произведен расчет электронных спектров оснований ДНК квантово-химическим расширенным методом Хюккеля, что дало зонную структуру ДНК. Оценена роль саморепарации ДНК в биологических системах. В качестве радиопротекторов при облучении лабораторных мышей изотопом *Po*-210 использовались те, мишенью которых является ДНК, в частности, оротовая, тиоротовая кислоты, оротилглицин и другие антиоксидантные вещества. Получено максимальное повышение выживаемости лабораторных мышей при инъекции такого радиопротектора, валентный n-уровень которого располагается ближе к середине запрещенной зоны ДНК; произведено сравнение предлагаемого метода применения радиопротекторов с другими методами в геронтологии. Сделан вывод, что применение в качестве геропротекторов определенных радиопротекторов вполне обосновано; такие вещества, которые в то же время являются антиоксидантами, в дозах, далеких от летальной, обладают рядом преимуществ перед другими геропротекторами,

Ключевые слова: радиопротектор, запрещенная зона, геронтология

Введение. Вещества, могущие достоверно замедлить старение человеческого организма, как стохастический процесс, пока отсутствуют. Применение таких препаратов, как рапамицин [9], метформин [17], продлевает жизнь модельных организмов – дрозофилы фруктовой, нематоды, серой крысы, домовой мыши и пр.). Возможно, появятся синтетические аналоги гормона голодания [18], используют также индралин, амифостин и т.д. Предполагается также наличие генетической программы старения, в виду нестареющих и даже «омолаживающихся», т.е. возвращающихся к предыдущим жизненным циклам, обращающим вспять процесс дифференциации клеток организмов.

Предлагается новая стратегия предохранения от негативных возрастных изменений, направленная на защиту от повреждений ДНК. Эти повреждения могут быть вызваны в том числе *свободными радикалами* (СР). В рамках т.н. СР-теории старения [4,6,8] предполагается, что старение происходит вследствие того, что СР, такие, как гидроксильный радикал HO^-, H_2O_2, синглетный кислород O^- и супероксид O_2^- повреждают макромолекулы – липиды, белки и, главным образом, РНК и ДНК [6,8,17]

СР-механизм старения подтверждается экспериментально [8,9]. Видовая продолжительность жизни прямо коррелирует с содержанием β-каротина, α-токоферола и мочевой

кислоты в сыворотке крови. В соответствии с этим из всех групп геропротекторов выбирается группа антиоксидантов.

Например, имеются данные о продлении жизни животных при повышенном содержании в организме природных веществ – гормона дигидроэпиандростерона, витаминов *A, C, E* (*α*-токоферола), янтарной кислоты, карнозина, каротиноидов, пигментов фруктов. Упоминаются также витамины *D, K, B*5, содержащая селен глутатион-пероксидаза, интерферон. К синтетическим геропротекторам относят фуллерены, а также препарат, названный по фамилии автора, Скулачева – *Sk*Q1 (10*E* (6'пластохинонил) децилтрифенилфосфоний) [14], также 10-(6-убихинолил) децилтрифенилфосфоний и др.

Действие антиоксидантов сводится к их реакциям с активными мишенями. Так, витамин *C* связывает водорастворимые СР, *b*-каротин – жирорастворимые СР, мелатонин – и те, и другие.

В данной статье предлагается радикальная модификация СР-теории старения. А именно: выбираются те антиоксиданты, мишенью которых является ДНК, как митохондриальные, так и ядерные.

Направление на защиту ДНК от повреждений выбрано в том числе в связи с тем, что повреждения ДНК в клетке сопоставимы со старением полимерных цепочек (например, в органическом стекле) под воздействием солнечного света. Это альтернативный взгляд на причину старения организма в целом. Такой способ защиты ДНК может стать существенной в антиоксидантной системе витаукта.

Д. Синклэйр и др. исследовали группу генов, сиртуинов. Были выведены мыши без одного из них. У мышей возникли признаки старения, но при этом уровни всех белков в клетках были нормальными, кроме тех, что кодирует митохондриальная ДНК.

Обнаружено, что на молекулярном уровне ключевую роль в процессе старения играет нарушение координации между геномами ядра клетки и ее митохондрий. Раскоординация начинается с падения уровня соединения никотинамид-аденин-динуклеотида, который уменьшается с возрастом. Без него белок, который кодируется сиртуином, не может контролировать активность одного из транскрипционных факторов – молекул, участвующих в транскрипции генетической информации с ДНК. Сиртуины также утрачивают способность регулировать процессы апоптоза. Уровень указанных факторов повышается, и это нарушает нормальную коммуникацию двух геномов. С течением времени из-за этого страдает способность клеток производить энергию, и организм стареет.

Удалось замедлить старение червей при помощи никотинамид-мононуклеотида, молекулы-предшественника никотинамид-аденин-динуклеотида, который превращается в клетках в никотинамид-аденин-динуклеотид и восстанавливает механизм коммуникации геномов в клетке. Старым мышам 22-месячного возраста делали инъекции в течение недели и обнаружили, что их мышечная ткань стала похожей на ткань 6-месячных грызунов, что соответствует у человека 64-м и 18 годам.

В то же время данная работа не снимает проблемы защиты самих ДНК от повреждений.

В других стратегиях также считается, например, что ключевую роль в процессе старения играют митохондрии, которые продуцируют СР. Полагают, что такие старческие заболевания, как диабет или болезнь Альцгеймера, возникают из-за необратимых мутаций в ДНК митохондрий.

Еще одна стратегия связана с защитой клетки, в том числе ДНК, от воздействия СР – путем воздействия на СР [17], где в качестве антиоксидантов рассматриваются селен-производные. В рамках данной стратегии внимание так же концентрируется на митохондриях – из-за того, что в митохондриях происходят активные окислительные процессы, связанные с метаболизмом, в них постоянно образуются СР, повреждающие клетку, а также ДНК митохондрий. С возрастом накапливаются повреждения и мутации, вызванные этими веществами.

В [17] было, в частности, показано, что применение липофильных катионов для транспортировки биоактивных молекул внутрь митохондрий значительно увеличивает их эффективность [9] Так, 10-(6-убихинолил) децилтрифенилфосфоний уже в микромолекулярных концентрациях селективно блокирует окислительные повреждения митохондрий и предотвращает апоптоз, ин-

дуцируемый пероксидом [15]). Однако разница между анти- и прооксидантными концентрациями данного реагента невелика [7].

Для снижения риска прооксидантной активности было предложено использовать пластохинон вместо убихинона [1]. Синтезированная молекула получила название *SkQ*1. Этот препарат препятствует, в частности, возрастным нарушениям у аутбредных мышей, его применение увеличивало выживаемость и среднюю продолжительность жизни на 92%. Но при этом – снижало двигательную активность и выносливость. Что естественно при снижении концентрации радикалов кислорода. То есть, в данном случае антиоксиданты действуют как ловушки для СР. При этом сами авторы предупреждают, что чистка митохондрий от СР может привести к перерождению клетки в раковую.

Цель исследования – обосновать применение радиопротекторов как геропротекторов.

Материалы и методы исследования. В данное время стала возможной публикация материалов 1-й и 2-й форм допуска, соответственно, открылись широкие возможности для использования методов радиобиологии в геронтологии.

Соответственно, для замедления старения организма предлагается использовать те вещества, которые ранее были использованы в качестве протекторов от радиационного поражения ядерных ДНК. При этом для подбора протекторов предлагается использовать те, чьи *n*-уровни «встраиваются» в середину запрещенной зоны системы уровней молекулы ДНК.

Для защиты от поражения проникающей радиацией используются различные протекторы. Одним из видов протекторов являются те, мишенью которых является ДНК. Они призваны залечить поражение именно ДНК от воздействия радиации, донируя электрон ионизированной в результате попадания γ-кванта ДНК.

Таким образом, в основу предлагаемого метода положен механизм саморепарации, существующий в ДНК. Это, в частности, обобществленная *π*-система, «распределяющая» возбуждение по всей длине ДНК. Она возникла в ходе эволюции, в отсутствие атмосферы, в условиях жесткого ультрафиолета и гамма-излучения. Потому, скажем, ДНК сине-зеленых водорослей сохранила максимальную способность к саморепарации, что позволяет им выживать в ядерном реакторе. В тканях организма человека содержится примерно 0,1 мГ урана на 1 кГ, т.е. медленно действующего радиоактивного яда. Он проникает в организм вместе с водой и пищей. Если бы у ДНК (и у клетки) отсутствовала бы система саморепарации, существование животного мира было бы невозможно (ранее Г. М. Баренбойм полагал, что ДНК защищается исключительно от излучения Вавилова-Черенкова, возникающего в клетках при распаде естественной примеси радиоактивных элементов, на самом деле, как мы предполагаем – от всего спектра распада).

Репарируется большинство повреждений ДНК, но небольшая часть сохраняется. Так, у крыс в каждой клетке ежедневно происходит 10^5 окислительных повреждений ДНК. Если скорость саморепарации не достигает скорости возникновения повреждений, число спонтанных повреждений ДНК увеличивается [16]. Существует связь между продолжительностью жизни вида и скоростью репарации ДНК после воздействия радиации или высокочастотного ультрафиолета [10].

Радиационная повреждаемость ДНК стволовых клеток кишечного эпителия мышей разных линий и возраста примерно одинакова, однако, скорость репарации этих повреждений с возрастом снижается. Способность диплоидных фибробластов человека к репарации индуцированных γ-излучением однонитевых разрывов ДНК достоверно снижается с увеличением возраста донора [5].

В рамках описания воздействия гамма-излучения на ДНК с точки зрения зонной теории макромолекула ДНК представляется как квазипериодический кристалл.

При рассмотрении зонной структуры ДНК обнаружено, что система энергетических уровней образуется вкладом отдельных оснований, причем при взаимодействии оснований каждый уровень размывается, образуя зону. Переходы происходят, в основном, между зонами оснований одного типа. Относительное смещение уровней оснований пренебрежительно мало.

Примерная ширина запрещенной зоны составляет по нашим расчетным данным приблизительно 3,83 эВ, по экспериментальным дан-

ным – 4 эВ. Расчеты производились в π-приближении.

При воздействии гамма-излучения после релаксации уровней происходит возбуждение π-электронной системы ДНК. При этом электроны с высшего занятого уровня π-системы переходят на ее низшее незанятое, или происходит ионизация молекулы. После прекращения действия излучения возбуждение мигрирует по ДНК и приводит либо к рекомбинации электронов и дырок, либо к повреждению молекулы.

Роль *n*-уровней ДНК аналогична роли примесных уровней в полупроводниках, где наибольшее влияние на скорость рекомбинации оказывают глубокие примесные уровни, лежащие вблизи середины запрещенной зоны – между валентной зоной и зоной проводимости кристалла (для металлов эта зона отсутствует). При удалении от середины вероятность перехода (донирования) снижается. В связи с этим можно предположить, что n-уровни необходимы для предохранения от возбуждения π-системы ДНК.

Необходимо отметить, что в свободном состоянии основания ДНК являются неустойчивыми к гамма-излучению. Отсюда также следует, что кооперация электронных оболочек играет главную роль в действии предохранительного механизма.

Методом итерационного РМХ рассчитаны электронные уровни ряда известных имеющих большую радиозащитную активность известных радиопротекторов, мишенью которых является ДНК: тиомочевины, меркамина, этирона и их производных. Оказалось, что энергии их валентных *n*-уровней, соответствует середине или лежит близко к середине запрещенной зоны π-системы ДНК. Удаление от середины приводит к снижению радиозащитной активности, выход за пределы запрещенной зоны (серин, парафенилендиамин, мочевина и др.) уменьшает активность до нуля.

Итак, наиболее эффективными оказываются именно те протекторы, *n*-уровни которых «встраиваются» в середину, располагаются ближе к середине запрещенной зоны.

Для подтверждения был взят ряд радиопротекторов, мишенью которых является ДНК: оротилглицин, тиоротилглицин, оротовая кислота, тиоротовая кислота, селеноротовая кислота.

Протекторы вводили мышам-гибридам линии (*CBA*x*C*57*B*16)F_1 массой 0,013-0,020 кг, по 20 мышей в опыте, внутрибрюшным способом за 20 мин. до облучения, в 2% крахмальном растворе в эквимолярных дозах 0,1-0,25 летальной дозы $ЛД_{16}$. Облучение производили изотопом *Po*-210 (5,3 МэВ, на установке «ИГУР» мощностью 0,8 Гр/мин.), в течение 10 мин.

Максимальную радиозащитную активность обнаружили селеноротовая кислота при $ЛД_{95/30}$ и тиоротилглицин при $ЛД_{60\text{-}70/30}$. Соотношение эффективной и токсической доз для них – 60-70%.

Расчет с помощью РМХ показал, что их *n*-уровни наиболее близко из всех перечисленных протекторов располагаются к середине запрещенной зоны ДНК.

Результаты и их обсуждение. Ранее предполагалось, что наличие у соединения электронно-донорных свойств является необходимым (хотя и не всегда достаточным) условием осуществления ими радиозащитного действия путем заполнения протектором-донором электронной вакансии, в биологических макромолекулах. При этом считалось, что зная энергию наивысшей заполненной молекулярной орбиты, мы тем самым получаем величину потенциала ионизации, которая может служить мерой электронно-донорной способности молекулы, и радиозащитная активность нарастает с увеличением числа донорных радикалов в молекуле.

В данной же работе показано, что наибольшим защитным эффектом обладают селеноротовая кислота и тиоротилглицин, *n*-уровни которых находятся близко к середине запрещенной зоны системы уровней ДНК.

Вопрос о механизме сближения протектора с мишенью очевиден: сближение ДНК и протектора имеет статистический (броуновский) характер и обусловливается водородной связью, возможно, с образованием эксимера.

Очевидно также, что модели ДНК, в отличие от полупроводника, где влияние на скорость рекомбинации определяется наибольшей вероятностью перехода (середина зоны), взаимодействие протектора с π-системой ДНК носит существенно неусредненный, квантовый характер.

Предлагаемый подход не лишает ДНК ее нормальной жизни под воздействием радикалов: протектор воздействует на саму ДНК, которой грозит повреждение.

В данном методе не требуются сильные антиоксиданты, которые могли бы снизить активность радикалов кислорода, антиоксиданты с большой разницей с прооксидантами, а нужны те, электронная структура которых является подходящей для оснований ДНК.

В данном методе не требуются катионы, введение которых само по себе негативно сказывается на клетке. При этом концентрация антиоскиданта-протектора может варьироваться в широком диапазоне.

Кроме того, при применении вышеуказанных геропротекторов-антиоксидантов наблюдаются тяжелые побочные эффекты: увеличение частоты развития аденом островков поджелудочной железы (бета-каротин), усиление канцерогенеза в толстой кишке (витамин *E*), увеличение концентрации холестерина и усиление его отложение в аорте (селен), индукция опухоли печени (дегидроэпиандростерон).

Применение радиопротекторов в дозах 10^{-5} $ЛД_{50}$ не вызывает побочных эффектов.

Очевидно также, что есть возможности моделировать протекторы других рядов антиоксидантов с заранее заданными свойствами, которые были бы более доступны и n-уровни которых встраивались бы в середину запрещенной зоны.

Выводы. Таким образом, применение радиопротекторов, служащих для защиты от радиационного излучения, может оказаться перспективным для предохранения ДНК, РНК, белков, организма в целом от старения.

APPLICATION OF THE RADIOPROTECTORS IN GERONTOLOGY

B.L. IKHLOV

FSUE "Special Design Bureau" Mayak ", Danshin St., 19, Perm, 614068, Russia, e-mail: officemayak@mail.ru

Abstract. A new method in the free-radical theory of aging is theoretically and experimentally validated, where the target is not free radicals, but DNA molecules, both mitochondrial and nuclear. At the same time, some radioprotectors, previously used to protect the body from radiation damage, are offered as antioxidants. The brief review of various strategies and methods in gerontology is given, their shortcomings are noted. In the quasi-crystalline model of DNA, the role of impurity levels is considered. The electronic spectra of DNA bases were calculated by the quantum-chemical extended Hückel method, which gave the band structure of DNA. The role of DNA self-repair in biological systems is evaluated. As radioprotectors when irradiated with laboratory mice, the *Po*-210 isotope was used by those whose target is DNA, in particular, orotic, thioric acid, orotylglycine and other antioxidant substances. The maximum survival rate of laboratory mice was obtained by injecting a radioprotector whose valency n-level is located closer to the middle of the forbidden DNA zone; a comparison is made of the proposed method of using radioprotectors with other methods in gerontology. It was concluded that the use of certain radioprotectors as geroprotectors is completely justified; such substances, which at the same time are antioxidants, in doses far from lethal, have a number of advantages over other geroprotectors.

Key words: radioprotector, bandgap, gerontology.

Литература

1. Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство. Прерывающее программу старения: катионные производные пластохинона: синтез и исследование in vitro. // Биохимия. 2008. Т. 73, №12. С. 1589–1606.

2. Племенков В.В. Природные соединения селена и

References

1. Antonenko YUN, Avetisyan AV, Bakeeva LE. Proizvodnoe plastokhinona, adresovannoe v mitokhondrii, kak sredstvo. Preryvayushchee programmu stareniya: kationnye proizvodnye plastokhinona: sintez i issledovanie in vitro [Derived plastoquinone addressed to mitochondria as a medium. Interrupts aging program: plastoquinone cationic derivatives: synthesis and in vitro investigation.]. Biokhimiya. 2008;73(12):1589-606. Russian.

2. Plemenkov VV. Prirodnye soedineniya selena i zdo-

здоровье человека // Вестник РГУ им. И. Канта. 2007. Вып. 1. Естественные науки. С. 63–68.

3. Юрова М.Н., Забежинский М.А., Пискунова Т.С., Тындык М.Л., Попович И.Г., Анисимов В.Н. Влияние митихондриального антиоксиданта SkQ1 на старение, продолжительность жизни и спонтанный канцерогенез у мышей трех линий // Успехи геронтологии. 2010. Т. 23, №3. С. 430–441.

4. Ames B.N., Shigenaga M.K., Hogen T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol. 90. P. 7915–7921.

5. Anisimov V.N. Carcinogenesis and Aging // Boca Raton: CRC Press. 1987. Vol. 1. P. 165.

6. Cutler R. Oxidative stress: its potential relevance to human disease and longevity determinants // Age. 1995. Vol. 18. P. 91–96.

7. Doughan A.K., Dikalov S.I. Mitochondrial redox cycling of mitoguinone leads to superoxide prodiction and cellular apoptosis // Antioxid Redox Signal. 2007. Vol. 9(11). P. 1825–1836.

8. Harman D. Free-radical theory of aging: invreasing the functional life span // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1994. Vol. 717. P. 1–15.

9. Gregory J. Gatto, Gregory J. Gatto, Michael T. Boyne, Neil L. Kelleher // Journal of the American Chemical Society. 2006. Vol. 128, Iss. 11. P. 3838–3847.

10. Likhachev A.J. Effects of age on DNA repair in relation to carcinogenesis. Cancer and Aging. A. Macieira-Coelho, B. Nordenskjold, eds. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990. P. 97–108.

11. Orr W.C., Sohal R.S. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in Drosophila melanogaster // Science. 1994. Vol. 263. P. 1128–1130.

12. Papa S., Skulachev V.P. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging // Molec. Cell. Biochem. 1997. Vol. 174. P. 305–319.

13. Parkes T.L., Elia A.J., Dickinson D., Hilliker A.J., Phillips J.P., Boulianne G.L. Extension of Drosophila lifespan by over-expression of human SOD1 in motoneurons // Nature Genetics. 1998. Vol. 19. P. 171–174.

rov'e cheloveka [Natural selenium compounds and human health]. Vestnik RGU im. I. Kanta. 2007;1(Estestvennye nauki):63-8. Russian.

3. YUrova MN, Zabezhinskij MA, Piskunova TS, Tyndyk ML, Popovich IG, Anisimov VN. Vliyanie mitikhondrial'nogo antioksidanta SkQ1 na starenie, prodolzhitel'nost' zhizni i spontannyj kancerogenez u myshej trekh linij [The effect of the mitochondrial antioxidant SkQ1 on aging, life expectancy, and spontaneous carcinogenesis in three-line mice]. Uspekhi gerontologii. 2010;23(3):430-41. Russian.

4. Ames BN, Shigenaga MK, Hogen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993;90:7915-21.

5. Anisimov VN. Carcinogenesis and Aging. Boca Raton: CRC Press. 1987;1:165.

6. Cutler R. Oxidative stress: its potential relevance to human disease and longevity determinants. Age. 1995;18:91-6.

7. Doughan AK, Dikalov SI. Mitochondrial redox cycling of mitoguinone leads to superoxide prodiction and cellular apoptosis. Antioxid Redox Signal. 2007;9(11):1825-36.

8. Harman D. Free-radical theory of aging: invreasing the functional life span. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1994;717:1-15.

9. Gregory J Gatto, Gregory J Gatto, Michael T. Boyne, Neil L. Kelleher. Journal of the American Chemical Society. 2006;128(11):3838-47.

10. Likhachev AJ. Effects of age on DNA repair in relation to carcinogenesis. Cancer and Aging. A. Macieira-Coelho, B. Nordenskjold, eds. Boca Raton, FL: CRC Press; 1990.

11. Orr WC, Sohal RS. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in Drosophila melanogaster. Science. 1994;263:1128-30.

12. Papa S, Skulachev VP. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. Molec. Cell. Biochem. 1997;174:305-19.

13. Parkes TL, Elia AJ, Dickinson D, Hilliker AJ, Phillips JP, Boulianne GL. Extension of Drosophila lifespan by over-expression of human SOD1 in motoneurons. Nature Genetics. 1998;19:171-4.

14. Skulachev V.P., Anisimov V.N., Antonenko Y.N., Bakeeva L.E., Chernyak B.V. An attempt to prevent senescence: A mitochondrial approach // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. 2009. V. 1787, Iss. 5. P. 437–461.

15. Tauskela J.S. MitoQ – a mitochondria-targeted antioxidant // Drugs. 2007. Vol. 10, №6. P. 339–412.

16. Vijg J. DNA sequence changes in aging: How frequent, how important? // Aging. Clin. Exp. Res. 1990. Vol. 2. P. 105–123.

17. Wouter De Haes, Lotte Frooninckx, Roel Van Assche, Arne Smolders, Geert Depuydt // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014. Vol. 111, Iss. 24. P. E2501–E2509.

18. Zhang Y., Xie Y., Berglund E.D., Coate K.C., He T.T., Katafiuchi T., Xiao G., Potthoff M.J., Wei W., Yihong W., Yu R.T., Evans R. M., Kliewer S.A., Mangelsdorf D.J. The starvation hormone, fibroblast growth factor-21, extends lifespan in mice. // Elife. 2012. №1. P. e00065. DOI: http://dx.doi.org/10.7554/eLife.00065

14. Skulachev VP, Anisimov VN, Antonenko YN, Bakeeva LE, Chernyak BV. An attempt to prevent senescence: A mitochondrial approach. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. 2009;1787(5):437-61.

15. Tauskela JS. MitoQ – a mitochondria-targeted antioxidant. Drugs. 2007;10(6):339-412.

16. Vijg J. DNA sequence changes in aging: How frequent, how important? Aging. Clin. Exp. Res. 1990;2:105-23.

17. Wouter De Haes, Lotte Frooninckx, Roel Van Assche, Arne Smolders, Geert Depuydt. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(24):E2501-9.

18. Zhang Y, Xie Y, Berglund ED, Coate KC, He TT, Katafiuchi T, Xiao G, Potthoff MJ, Wei W, Yihong W, Yu RT, Evans RM, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. The starvation hormone, fibroblast growth factor-21, extends lifespan in mice. Elife. 2012;1:e00065. DOI: http://dx.doi.org/10.7554/eLife.00065

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 216–222
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 216–222

УДК: 612.13 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16068

КОМПЬЮТЕРНАЯ РЕОВАЗОГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ЦИКЛИЧЕСКОЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СОСУДИСТОГО РУСЛА БОЛЬШОГО КРУГА КРОВООБРАЩЕНИЯ

А.А. ГАРАНИН

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099, Россия, e-mail: sameagle@yandex.ru

Аннотация. На основании около 300 наблюдений по данным компьютерной реографии в сосудистом цикле большого круга кровообращения выделены два периода: систолы и диастолы по аналогии с сердечным циклом. Каждый период подразделен на фазы, приводится детальное описание физиологических процессов, происходящих в каждую фазу и биомеханические свойства различных отделов сосудистого русла. В качестве клинического примера приведены результаты обследования 130 человек, которые распределены по 4 группам. Группа 1 (40 человек) – практические здоровые люди (контрольная). Группы 2, 3 и 4 (по 30 человек в каждой) составили лица с основными факторами риска атеросклероза: 2 группа – курильщики; 3 группа – пациенты с мягкой артериальной гипертензией; 4 группа – больные сахарным диабетом 1 типа. Выполнен расчет основных параметров биомеханики большого круга кровообращения (длительность фаз, средние скорость, ускорение, мощность и работа) в группах сравнения и их сопоставление с результатами контрольной группы. Полученные данные позволяют дополнить существующие противоречивые данные о физиологии большого круга кровообращения, количественно оценить биомеханику артериальной и венозной его частей, микроциркуляторного русла.

Ключевые слова: биомеханика, большой круг кровообращения, реография, факторы риска атеросклероза.

Введение. В настоящее время клиническая медицина располагает широким спектром различных методов исследования морфологии и функции сосудов *большого круга кровообращения* (БКК): ультразвуковое сканирование, лазерная допплеровская флоуметрия, плетизмография, ангиография и др. [11]. Однако, часть применяемых способов диагностики либо инвазивны, либо дорогостоящи, либо малоинформативны. Вместе с тем, несправедливо забыт перспективный метод медицинской практики, обладающий широким диагностическими возможностями, – реография [12]. Значительным преимуществом данного метода является возможность одновременного изучения кровообращения различных областей тела, исследование которых иными методами сопряжено с техническими трудностями или не представляется возможным, что позволяет оценивать закономерности общей гемодинамики в условиях безопасного, неинвазивного, малозатратного и необременительного для врача и пациента исследования.

Цель исследования – Изучить функциональное взаимодействие различных отделов большого круга кровообращения с помощью компьютерной реографии.

Материалы и методы исследования. Для записи кривых реограмм применен двухканальный полиграф «Элон», работающий в диапазоне частот 120-150 кГц, являющихся оптимальными для исследования биоимпеданса тела человека [10].

Автором использована методика реографии, с регистрацией электрического сопротивления всей конечности, за исключением кистей и стоп, а не сегментарно, как в методиках, предлагаемых ранее [5]. Для исследования периферического кровотока был выбран метод продольной реографии в авторской модификации [3].

Регистрация кривых реограмм осуществлялась с использованием биполярных циркулярных электродов с площадью поверхности 10 см^2. Активный электрод помещался на верхней конечности на плечо между проксимальной и средней его третями, индифферентный – в области запястья; на нижней конечности активный электрод располагался между проксимальной и средней третями бедра, индифферентный – непосредственно над лодыжками.

К настоящему времени существует значительное количество способов анализа и интерпретации реографической кривой, однако от-

сутствует единый, унифицированный подход. В составе реографической кривой принято выделять: анакроту (восходящую часть), вершину и катакроту (нисходящую часть), формирующих систолическую и диастолическую волны [13].

В работах многих авторов, изданных за последние десятилетия, отсутствуют общепринятые обозначения фаз и элементов кривой реограммы. Длительность катакротической фазы ряд исследователей считают от перпендикуляра, опущенного из вершины систолической волны на изоэлектрическую линию, до конца реопульсового цикла [8]. По мнению других авторов, длительность времени β простирается не до конца катакротической части реограммы, а лишь до ее уплощенного участка [4].

Большинство исследователей считает, что границей между систолической и диастолической частью реограммы служит инцизура [13]. Это утверждение содержит существенное противоречие – катакрота систолической волны представляет собой ее нисходящую часть, за вершиной следует пологий спуск, свидетельствующий о превалировании оттока над притоком крови и падением электропроводности. Следовательно, катакротическая часть систолической волны представляет собой часть систолы большого круга кровообращения. В тоже время обозначение анакроты, вершины и катакроты как систолической волны в корне неверно, поскольку во время анакроты происходит подъем кривой, в результате возрастания электропроводности за счет прихода в исследуемый сегмент тела ударного объема. Таким образом, анакрота представляет собой часть диастолы БКК.

Отсутствие единообразия в интерпретации амплитудных и временных характеристик реографической кривой, названий и обозначений ее элементов затрудняет однозначный подход к анализу кривых реограммы и сопоставление данных реографических исследований различных авторов. Этот факт явился поводом к разработке новой фазовой структуры реовазограмм, детального описания физиологических процессов, происходящих в каждую фазу сосудистого цикла, с целью создания унифицированной методики анализа и обозначения элементов кривых реограмм для количественной оценки биомеханики различных отделов БКК.

Проведено 130 одномоментных обсервационных исследований с участием 40 практически здоровых лиц (группа 1) и 90 пациентов с основными факторами риска атеросклероза, которые рандомизированы в группы по 30 человек по наличию: курения (группа 2), мягкой *артериальной гипертензией* (АГ) I стадии (группа 3) и *сахарным диабетом* (СД) 1 типа (группа 4). В исследование не включались лица с микро- и макроангиопатиями, нейропатиями, клиническими, лабораторными и инструментальными признаками атеросклероза. Средний возраст обследуемых в группах 1, 2 и 3 составил 25,6±3,1 года, в группе 3 – 40,8±3,3 года.

Всем обследуемым регистрировались реограммы верхних и нижних конечностей синхронно с апекскардиограммами и сфигмограммами локтевой и бедренной артерии.

Регистрация кривых сопровождения – апексардиограмм проводилась по классической методике в положении обследуемого на левом боку при задержке дыхания в фазе неглубокого выдоха в точке наибольшей пульсации левожелудочкового толчка; сфигмограмм – по традиционной методике с использованием тензометрического датчика [11].

В основе обработки кривых реограмм положен принцип, предложенный В.Н. Фатенковым и соавт. [15]. По сглаженным значениям амплитуд вычисляли первую и вторую производную реограмм, при помощи которых рассчитывали количественные значения скорости и ускорения изменения сопротивления, мощности и выполняемой работы БКК по перемещению ударного объема крови с помощью авторской программы *«Rheograph»*.

В процессе анализа реограмм и их производных установлено, что график второй производной реовазограмм содержит два идентифицируемых минимума, три максимума и два перехода через ноль. При многократном воспроизведении записи реограмм у одного и того же обследуемого указанные характерные точки возникают в строго определенной временной последовательности на реограммах различных сосудистых бассейнов БКК вне зависимости от пола и возраста.

Согласно данному принципу удалось выделить в сосудистом цикле БКК два периода: систолы и диастолы, по аналогии с сердечным циклом, и разделить каждый период на фазы. Систола БКК состоит (рис. 1) из фаз *эластического* (точки 3-4) и *мышечного* (точки 4-5) *компонентов оттока* (ЭКО и МКО) и *капиллярно-венозного оттока* (точки 5-6) (КВО). Диастола БКК включает *метаболическую фазу* (МБ) (точки

6-0), *распространения пульсовой волны* (РПВ) (точки 0-1), *быстрого* (точки 1-2) и *медленного* (точки 2-3) *притока* (БП и МП). Кроме того, на реовазограмме выделяются *диастола* (ДП) правого предсердия, которая совпадает по времени с фазой МКО (точки 4-5) и *систола* (СП) (точки 5-6), совпадающая с фазой КВО.

В каждую выделенную фазу вычисляли значения первой и второй производной реовазограмм и с их помощью определяли следующие параметры биомеханики: t, с – продолжительность фазы; $v_{ср}$, Ом/с – средняя скорость изменения сопротивления; $a_{ср}$, Ом/с^2 – среднее ускорение (сила); $N_{ср}$, Ом^2/с^3 – средняя мощность; W, Ом^2/с^2 – работа.

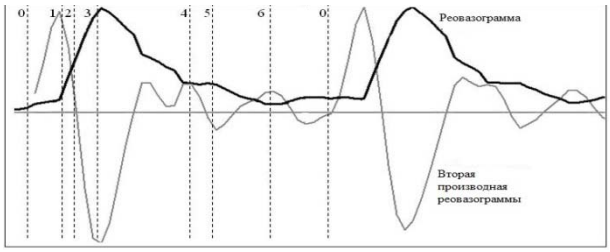


Рис. 1. Реограмма верхней конечности и ее вторая производная

Статистический анализ результатов был построен на непараметрических методах с использованием критерия Вилкоксона при помощи программы *«Statistica 6.0»*. Достоверными считали различия при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Для возможности детального описания фаз сосудистого цикла, сопоставления их с фазами сердечного цикла и выявления взаимосвязи центральной и периферической гемодинамики, были проведены синхронные записи реовазограмм и апекскардиограмм.

Систола БКК начинается фазой ЭКО из артериальной его части. Обусловлена она сокращением эластических структур стенок аорты и ее ветвей и поступлением крови в нижележащие отделы артериального русла. Сокращение эластических структур крупных артерий, предварительно растянутых ударным объемом крови, осуществляется за счет запасенной кинетической энергии в диастолу [1]. По времени данная фаза совпадает с фазами редуцированного изгнания и изоволюмического снижения внутрижелудочкового давления. Таким образом, биомеханика фазы ЭКО БКК определяется двумя факторами – механическими свойствами левого желудочка в систолу и эластическими свойствами магистральных артерий и аорты.

Следующая фаза – МКО из БКК характеризуется сокращением мышечных волокон стенок магистральных артерий, дальнейшим продвижением ударного объема по артериальной части и поступлением крови в микроциркуляторное русло.

В данную фазу наблюдается увеличение кровенаполнения артериол и капилляров и скорости кровотока в БКК. При сопоставлении с фазами сердечного цикла удалось выявить, что фаза МКО соответствует фазе быстрого наполнения желудочков. Клапаны аорты закрыты, сокращение мышечных слоев артерий создает предпосылки для регургитации крови в проксимальные отделы артериального русла, диастолическое давление в аорте высокое, что позволяет крови поступать из синусов Вальсальвы в устья коронарных артерий [2]. Наблюдалось увеличение электропроводности, которое проявляется подъемом на реограмме в данную фазу, обусловленное суммацией отраженных волн от бифуркаций артерий и эластическими свойствами артериальной стенки. В физиологическом смысле данная фаза очень значима, т.к. в этот отрезок времени происходит обмен между артериальной кровью и тканями [9].

Заключительная систолическая фаза – КВО обусловлена активным присасывающим действием правого желудочка в фазу быстрого наполнения и усилением оттока из БКК с преобладанием его над притоком. Начало данной фазы совпадает с началом фазы медленного наполнения правого желудочка и завершается с окончанием фазы систолы предсердий. По нашему мнению, биомеханика БКК в фазу КВО зависит от тонуса вен, состояния их клапанного аппарата, функционирования субэндо- и субэпикардиальных слоев правого желудочка. В данной фазе осуществляется обмен веществ между венозной кровью и тканями [7].

ДП и СП начинают цикл правых отделов сердца. Совпадают по времени с фазами МКО и КВО соответственно, определяются преимущественно работой миокарда правых отделов сердца и магистральных вен. СП – непостоянная волна на реовазограммах, обусловленная частичным возвратом крови в полые вены в систолу правого предсердия, приводящая к замедлению или прекращению венозного оттока и, соответственно, к падению электрического сопротивления в микроциркуляторном русле. Это обусловлено анатомией миокарда предсер-

дий – круговые пучки глубокого мышечного слоя охватывают устья полых вен и во время систолы правого предсердия и препятствуют регургитации крови в полые вены [6]. Однако, этот блок не герметичен, и часть крови все-таки попадает в полые вены, незначительно влияя на изменение сопротивления. ДП характеризуется усилением оттока из венозного отдела БКК преимущественно за счет присасывающего действия правого желудочка и совпадает по времени с фазой МКО, т.е. соответствует фактически фазе быстрого наполнения правого желудочка. ДП не вносит значимого вклада в биомеханику как самостоятельное физиологическое явление [15]. СП в норме не оказывает существенного влияния на биомеханику БКК. Эта фаза сердечного цикла начинает приобретать значение лишь тогда, когда возникает нарушение сократительной функции правого предсердия, например, в случае его дисфункции на фоне кардиосклероза, когда круговые пучки глубокого мышечного слоя недостаточно плотно охватывают устья полых вен вследствие снижения их сократительной способности. В этом случае регургитация крови в момент систолы предсердий в полые вены может быть значительной настолько, что совместно с усилением обратного венного пульса способна повлиять на биомеханику в фазу КВО [6].

Биомеханика диастолы БКК зависит от ряда факторов: систолы левого желудочка, состояния аорты, ее ветвей и периферического сопротивления мелких артерий, артериол, прекапилляров, нервного аппарата, обеспечивающего их иннервацию [14].

Диастола БКК начинается МБ фазой, которая имеет большой физиологический смысл. В эту фазу изгнание крови из левого желудочка и посылаемые импульсы из синусового узла способствует продвижению крови по *vasa vasorum* из проксимальных отделов к дистальным, что позволяет артериям подготовиться к принятию ударного объема [6]. Кроме того, это обеспечивает трофику тканей стенки магистральных артерий: к ним поступает кровь, насыщенная кислородом и энергетическими продуктами, что позволяет синтезировать АТФ для последующего активного сокращения [2]. Начало МБ фазы совпадает по времени с началом фазы внутрижелудочкового перемещения крови, а завершается с окончанием фазы изоволюмического повышения внутрижелудочкового давления. В этот отрезок времени на реовазограмме происходит краткое увеличение электропроводности, а значит, ток крови по сосуду, не связанный с приходом ударного объема. Подобное явление не наблюдается ни на реопульмонограмме, ни на параллельно записанной сфигмограмме магистральных артерий. Данное явление обусловлено, прежде всего, кровотоком в системе *vasa vasorum*, и в меньшей степени ретроградным током крови, обусловленным обратным венным пульсом.

Следующая диастолическая фаза – фаза РПВ, которая характеризует в большей степени механические свойства артериального русла и в меньшей – биомеханику левого желудочка. Совпадает данная фаза с фазой максимального изгнания 1. Полулунные клапаны открыты, вследствие сокращения циркулярного слоя первые порции крови поступают в аорту [6]. В физиологическом смысле эта фаза является тем промежутком времени, который необходим артериальному руслу для активного расширения и подготовки к принятию ударного объема крови.

Фаза БП в БКК отражает преимущественно биомеханику левого желудочка и расширение аорты и ее главных ветвей под воздействием ударного объема крови. Совпадает по времени с фазой максимального изгнания 2 левого желудочка.

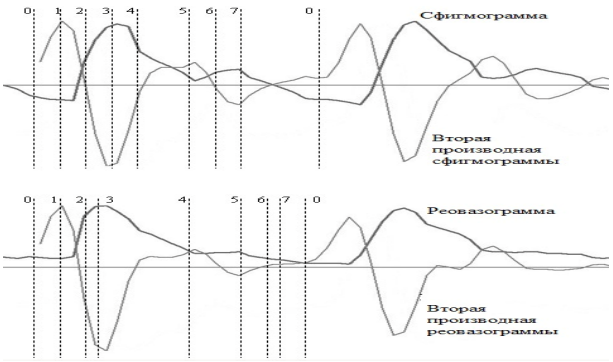


Рис. 2. Синхронная регистрация сфигмограммы локтевой артерии (сверху) и реограммы верхней конечности

Фаза МП соответствует фазе максимального изгнания 2 левого желудочка и отражает сопротивление артерий мышечно-эластического и мышечного типов. Для преодоления сопротивления магистральных артерий и их ветвей, сопротивление которых значительно превышает сопротивление аорты, сердце вынуждено выполнять значительную работу [1]. В это вре-

мя вместе с циркулярным слоем начинается сокращение субэндо- и субэпикардиальных слоев миокарда, что приводит к повышению внутрижелудочкового давления, несмотря на начавшийся выход крови из полости левого желудочка в аорту. Систолический выброс получает основную часть кинетической энергии, что помогает продвижению ударного объема крови в дистальном направлении.

Таблица

Показатели биомеханики большого круга кровообращения по данным реовазографии верхней конечности в исследованных группах

Фазы / Группы	МБ	РПВ	БП	МП	ЭКО	МКО	КВО
Длительность фаз, *t* (с)							
Группа 1	0,09	0,09	0,06	0,06	0,21	0,16	0,31
Группа 2	0,10	0,10	0,06	0,06	0,24	0,17	0,23 *
Группа 3	0,11	0,11	0,05	0,05	0,19	0,15	0,30
Группа 4	0,10	0,10	0,06	0,06	0,23 *	0,15	0,26
Средняя скорость, *v* (10^{-5} Па/с)							
Группа 1	0,59	0,80	8,08	10,67	4,95	2,06	2,13
Группа 2	0,73	0,68	7,40	10,85	4,63	1,50	2,04
Группа 3	0,45	0,64	8,34	10,54	4,00	1,50	1,97
Группа 4	0,44	0,91	7,74	10,55	4,13 *	2,13	2,31
Среднее ускорение, *a* (10^{-5} Па/с^2)							
Группа 1	6,51	65,20	138,22	107,75	110,99	51,85	31,82
Группа 2	9,61	62,52	139,45	106,89	95,91	45,56	30,49
Группа 3	4,86	58,50	143,20	106,17	93,60	30,75*	16,81*
Группа 4	6,04	62,16	139,28	96,97*	87,93*	42,50	17,01*
Средняя мощность, *N* (10^{-10} Па/с^3)							
Группа 1	2,87	62,52	1082,19	1156,10	378,61	93,89	70,48
Группа 2	5,68	59,55	979,23	1085,07	332,55	72,35	47,33
Группа 3	2,17	46,52	1011,31	1084,01	304,52	45,39*	31,29*
Группа 4	3,18	68,15	1066,31	1073,23	238,86*	82,56	36,81
Работа, *W* (10^{-10} Па/с^2)							
Группа 1	0,15	4,41	41,88	46,25	54,27	12,48	7,21
Группа 2	0,37	4,22	39,17	43,41	48,80	6,88	4,73
Группа 3	0,16	3,85	38,66	43,56	39,82*	4,67*	2,91*
Группа 4	0,14	4,79	42,65	44,13	40,44*	7,04	3,64

Примечания: МБ – метаболическая фаза; РПВ – фаза распространения пульсовой волны; МП – фаза медленного притока; БП – фаза быстрого притока; ЭКО – фаза эластического компонента оттока; МКО – фаза мышечного компонента оттока; КВО – фаза капиллярно-венозного оттока; * – достоверное различие с группой контроля (p<0,05)

В дальнейшем было проведено наблюдение в ходе 300 синхронных регистраций реограмм верхней конечности и сфигмограмм локтевой артерии (рис. 2). Установлено, что момент прихода в конкретный сегмент человеческого тела ударного объема крови, который на реограмме соответствует началу фазы БП (точка 1) и характеризуется увеличением электропроводности, отстает по времени от начала фазы БП (точка 1) на сфигмограмме локтевой артерии на 20-40 мс [2]. Таким образом, в фазу БП происходит активное расширение локтевой артерии, опережающее волну давления и приход основного объема крови.

Результаты обследования указанных выше групп наблюдения приведены в табл.

Таким образом, обнаружены достоверные изменения биомеханики БКК у лиц с основными факторами риска атеросклероза. У курильщиков они заключались в нарушении капиллярно-венозного оттока. У пациентов с артериальной гипертензией зарегистрированы нарушения физиологии систолы БКК. Наиболее выраженные изменения отмечены у больных СД 1 типа – отклонения от нормы биомеханических показателей выявлены в оба периода сосудистого цикла.

Рассматривая теорию «периферического сердца» выдающегося отечественного клинициста М.В. Яновского с позиций современной экспериментальной и практической кардиологии, обладая новыми инструментальными возможностями изучения центральной гемодинамики и периферического кровообращения, с уверенностью можно утверждать, что в организме человека существует комплекс анатомо-функциональных условий, который можно именовать «периферическим сердцем».

Заключение. Полученные данные позволяют дополнить существующие теории биомеханики БКК. Обоснована необходимость разделения сосудистого цикла на периоды систолы и диастолы посредством модификации неинвазивного, воспроизводимого и доступного инструментального метода исследования. Установлена четкая взаимосвязь центральной гемодинамики и периферического кровообращения, преемственность между сердцем и сосудистой системой по перемещению ударного объема крови, показана состоятельность теории «периферического сердца», что позволяет иначе взглянуть на проблему недостаточности кровообращения, в настоящее время несправедливо называемой сердечной недостаточностью. Использование компьютерной реографии и новой фазовой

структуры реограмм помогает количественно проанализировать биомеханику БКК и вести расчет такого количества показателей, которое позволяет детально оценить функцию каждого его отдела.

COMPUTER RHEOVASOGRAPHY IN THE EVALUATION OF CYCLIC CONTRACTILE ACTIVITY OF THE VASCULAR BED OF A LARGE BLOOD CIRCULATION

A.A. GARANIN

Samara State Medical University, Chapaevskaya Str., 89, Samara, 443099, Russia, e-mail: sameagle@yandex.ru

Abstract. Based on about 300 observations according to computer rheography in the vascular cycle of the great circle of blood circulation, two periods are singled out: systoles and diastoles by analogy with the cardiac cycle. Each period is divided into the phases, a detailed description of the physiological processes occurring in each phase and the biomechanical properties of different parts of the vascular bed are given. As an example, the results of a survey of 130 people are presented, which are divided into 4 groups. The 1group (40 people) presents practical healthy people (control). The 2, 3 and 4 groups (30 people each) consisted of the persons with major risk factors for atherosclerosis: 2 group – smokers; 3 group – patients with mild hypertension; 4 group – patients with diabetes mellitus type 1. The author presents a calculation of the main parameters of biomechanics of a large circle of blood circulation (phase duration, average speed, acceleration, power and work) in the comparison groups and their comparison with the results of the control group. The obtained data allow supplementing existing contradictory data on the physiology of a large range of blood circulation and quantify the biomechanics of the arterial and venous parts of it, the microcirculatory bed.

Key words: biomechanics, large circulation, rheography, atherosclerosis risk factors.

Литература

1. Актуальные вопросы физиологии кровообращения. М.: Крымский медицинский институт, 2014. 172 с.

2. Гаранин А.А., Рябов А.Е. Новое в биомеханике большого круга кровообращения // Российский журнал биомеханики. 2014. Т. 18, №3. С. 345–360.

3. Гаранин А.А., Рябов А.Е., Щукин Ю.В. Способ наложения электродов для регистрации реовазограмм. Патент России № 2558471, 2015. 6 с.

4. Иванов Л.Б., Макаров В.А. Лекции по клинической реографии. М.: Научно-мед. фирма МБН, 2000. 319 с.

5. Кулаичев А.П. Компьютерная электрофизиология и функциональная диагностика: учеб. пособие. 4-е изд., перераб. и доп. Москва: ФОРУМ: ИНФРА-М, 2016. 622 с.

6. Механика кровообращения / Каро К. [и др.]. М.: Мир, 2013. 624 с.

References

1. Aktual'nye voprosy fiziologii krovoobrashcheniya [The actual questions of physiology of circulation]. Moscow: Krymskij medicinskij institut; 2014. Russian.

2. Garanin AA, Ryabov AE. Novoe v biomekhanike bol'shogo kruga krovoobrashcheniya [New in the biomechanics of the great circle of blood circulation]. Rossijskij zhurnal biomekhaniki. 2014;18(3):345-60. Russian.

3. Garanin AA, Ryabov AE, SHCHukin YUV; inventors. Sposob nalozheniya ehlektrodov dlya registracii reovazogramm [Method of electrode application for registration reovassogramme]. Russian. Federation patent RU 2558471; 2015. Russian.

4. Ivanov LB, Makarov VA. Lekcii po kli-nicheskoj reografii [Lectures on clinical rheography]. Moscow: Nauchno-med. firma MBN; 2000. Russian.

5. Kulaichev AP. Komp'yuternaya ehlektrofiziologiya i funkcional'naya diagnostika [Computer electrophysiology and functional diagnostics]. Ucheb. posobie. 4-e izd., pererab. i dop. Mocsow: FORUM: INFRA-M; 2016. Russain.

6. Karo K, et al. Mekhanika krovoobrashcheniya [The mechanics of the circulation]. Moscow: Mir; 2013. Russian.

7. Парашин В.Б., Иткин Г.П. Биомеханика кровообращения: Учеб. пособие / Под ред. С.И. Щукина. М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2010. 224 с.

8. Полищук В.И., Терехова Л.Г. Техника и методика реографии и реоплетизмографии. М.: Медицина, 1983. 176 с.

9. Рассел Д. Круги кровообращения человека. М.: Книга по Требованию, 2012. 445 с.

10. Ронкин М.А., Иванов Л.Б. Реография в клинической практике. М., 1997. 403 с.

11. Реографические методы исследования сосудистой системы. Учебное пособие / Полухина Е.В. [и др.]. Хабаровск, 2006. 97 с.

12. Реография. БМЭ. 3-е изд. Т.29. М., 1984. 544 с.

13. Стручков П.В. Функциональная диагностика: руководство. Федерал. медико-биолог. агентство, ФГБОУ ДПО «Ин-т повышения квалификации федерал. медико-биолог. Агентства». 2-е изд. Москва: Медика, 2012. 252 с.

14. Уиггерс К. Динамика кровообращения. М.: Издательство иностранной литературы, 2014. 136 с.

15. Фатенков В.Н. Новое в биомеханике сердца, артерий и малого круга кровообращения: монография. Самара: Самар. Гос. техн. ун-т., 2009. 222 с.

7. Parashin VB, Itkin GP. Biomekhanika krovoobrashcheniya [Biomechanics of blood circulation]. Ucheb. posobie / Pod red. S.I. SHCHukina. Moscow: Izd-vo MGTU im. N.EH. Baumana; 2010. Russian.

8. Polishchuk VI, Terekhova LG. Tekhnika i metodika reografii i reopletizmografii [Technique and methodology rheography and replicatory]. Moscow: Medicina; 1983. Russian.

9. Rassel D. Krugi krovoobrashcheniya cheloveka [Circles of the human circulatory]. Moscow: Kniga po Trebovaniyu; 2012. Russian.

10. Ronkin MA, Ivanov LB. Reografiya v kli-nicheskoj praktike [Rheography in clinical practice]. Moscow; 1997. Russian.

11. Poluhina EV, et al. Reograficheskie me-tody issledovaniya sosudistoj sistemy. Uchebnoe posobie [Geographical methods of investigation of the vascular system. Textbook]. Habarovsk; 2006. Russian.

12. Reografiya [Rheography]. BMEH. 3-e izd. T.29. Moscow; 1984. Russain.

13. Struchkov PV. Funkcional'naya diagnostika: rukovodstvo. Federal. mediko-biolog. agentstvo, FGBOU DPO «In-t povysheniya kvalifikacii federal. mediko-biolog. Agentstva». 2-e izd [Functional diagnosis: a guide. Federal soldier. medical biologist. Agency, FGBOU DPO "Institute of qualification improvement of Federal. medical biologist. Agencies.» 2nd edition]. Moscow: Medika; 2012. Russian.

14. Uiggers K. Dinamika krovoobrashcheniya [Dynamics of blood circulation]. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoj literatury; 2014. Russian.

15. Fatenkov VN. Novoe v biomekhanike serd-ca, arterij i malogo kruga krovoobra-shcheniya: monografiya [New in the biomechanics of the heart, arteries and the circulatory system: monograph]. Samara: Samar. Gos. tekhn. un-t.; 2009. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 223–226
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 223–226

УДК: 618.333(470.312)

РЕГИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ МЕРТВОРОЖДАЕМОСТИ

Н.Н. ГРАНАТОВИЧ, Е.Р. ФРОЛОВА

ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», пр. Ленина, д. 92, г. Тула, 300012, Россия

Аннотация. Мертворождение остается актуальной проблемой в современном практическом акушерстве. В работе рассматриваются случаи антенатальной и интранатальной гибели плода в стационаре III уровня в Тульской области, и проводится анализ причин, которые могли привести к мертворождению.Цель исследования: определить частоту и выявить факторы риска мертворождений. Материалы и методы исследования: проведен ретроспективный анализ медицинской документации (обменные карты, истории родов, протоколы патолого-анатомического исследования плаценты и аутопсии) всех случаев мертворождений в ГУЗ «Тульский областной перинатальный центр» за 2016 год. Результаты исследования: показатель мертворождаемости составил 9.2 на 1000 родившихся живыми и мертвыми. Наибольшее количество мертворождений происходило у женщин в возрасте 36-40 лет (28,9%). Более половины женщин имели избыточную массу тела или ожирение (55,6%). Основные причины мертворождений: соматические заболевания матери – 22,2%, внутриутробная инфекция плода – 17,8%, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты – 13,3%, тяжелая преэклампсия – 11,1%, короткая пуповина и тугое обвитие шеи плода – 4,4%, врожденные пороки развития – 4,4%, причину установить не удалось – 26,7%. Заключение: показатель мертворождаемости в акушерском стационаре третьего уровня аналогичен показателям сходных по характеристикам учреждений РФ. В 26,7% случаев причина мертворождаемости остается неизвестной.

Ключевые слова: перинатальная смертность, мертворождаемость, роды.

Актуальность. Перинатальная смертность – собирательное понятие, объединяющее смертность жизнеспособных плодов начиная с 22 недели беременности и до начала родовой деятельности у матери, а также во время родов и в течение первых 168 часов жизни. Уровень и структура ПС представляет собой не только качественный показатель здоровья рождающегося потомства, но и характеризует состояние неонатологической и акушерской службы [5,6]. Совершенствование перинатальной службы привело к резкому снижению ранней неонатальной смертности в течение последних нескольких десятков лет, однако, без снижения антенатальных потерь. Согласно критериям ВОЗ, мертворождение – это рождение плода, у которого отсутствуют признаки живорождения (дыхание, сердцебиение, пульсация пупочных сосудов или спонтанное движение мышц) в сроке беременности 22 нед. и более, при массе плода 500 г и более или когда масса неизвестна, при длине плода 25 см и более [9]. Антенатальная гибель плода может наступить в любой момент беременности по причине зависимых и независимых от влияния человека причин [1]. К независимым причинам относится генетический код развивающегося плода. Зависимые причины можно разделить на немедицинские и медицинские. К немедицинским относятся социальные, социально-бытовые, социально-общественные, психологические, экономические факторы воздействия на развивающийся организм плода. К медицинским причинам относятся соматическая патология матери, патологическое течение беременности, болезни плода во внутриутробном периоде, качество медицинской помощи, оказанной беременной. Для развитых стран перечень основных факторов риска включает: медико-социальные факторы: избыточная масса тела (ИМТ>25 кг/*m2*) – 8-18% случаев мертворождений; возраст беременных старше 35 лет – 7-11%; курение – 4-7% (среди бедного населения до 20%); осложнения беременности: задержка роста плода – 23% и отслойка плаценты, причины, связанные с плацентой – 15%; сахарный диабет и гипертензивные расстройства также остаются важными факторами риска [8]. Проведенный анализ показал, что 68,6% материнских потерь в области определяются основными причинами: преэклампсия (25,7%), кровотечение (17,15%), экстрагенитальная патология (17,15%) и септические осложнения (8,6%) [2].

Цель исследования – определить частоту и выявить факторы риска мертворождений в стационаре III уровня.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ медицинской документации (обменные карты, истории родов, протоколы патолого-анатомического исследования плаценты и аутопсии) всех случаев мертворождений в ГУЗ «Тульский областной перинатальный центр» за 2016 год.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием пакета анализа *Excel* 10.0 с оценкой достоверности различий по *t*-критерию Стьюдента. Результаты представлены как $M \pm m$. За уровень достоверности статистических показателей было принято значение $p \leq 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. Всего за указанный период в учреждении произошло 4762 родов. Из них 45 закончились мертворождением – антенатальной – 40, интранатальной – 5 гибелью плода (показатель составил 9.2 на 1000 родившихся живыми и мертвыми). Основной причиной интранатальной смерти явилась интранатальная гипоксия и асфиксия.

На рис. 1 представлена динамика показателей перинатальной смертности и мертворождаемости по перинатальному центру за 5 лет (2012-2016 г.г.). Как видно из рисунка, в структуре перинатальной смертности мертворождаемость за 5 лет увеличилась с 70% (2012 г.) до 75% (2016 г.), при этом наибольший показатель мертворождаемости зарегистрирован в 2015 г.

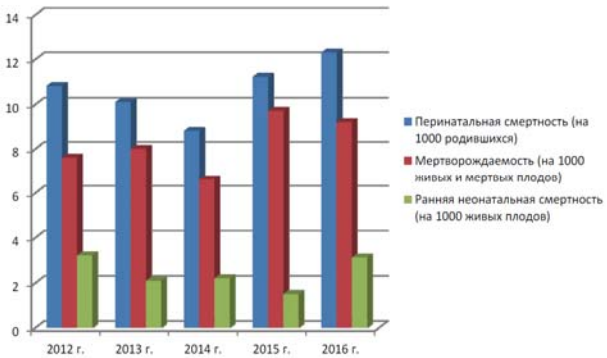


Рис. 1. Динамика показателей перинатальной смертности и мертворождаемости по перинатальному центру за 5 лет (2012-2016г.г.)

На рис. 2 представлено распределение случаев по возрастным группам беременных. Согласно полученным данным, наибольшая доля случаев мертворождений имела место в группе 36-40 лет, исследование подтвердило наличие повышенного риска гибели плодов в группе женщин старше 35 лет.

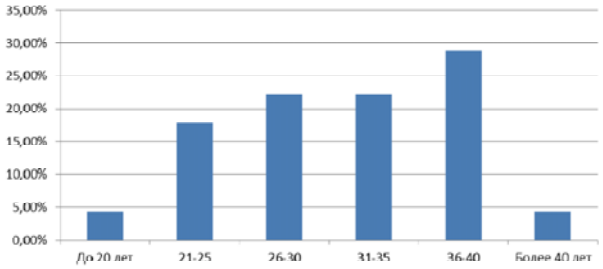


Рис. 2. Распределение беременных по возрасту

Большинство женщин состояли в браке (71,1%). Высшее образование имели 17 (37,8%), среднее специальное – 13 (28,9%), среднее – 15 (33,3%). В данной выборке частота первородящих составила 37,8%, повторнородящих – 62,2%. Более половины женщин имели избыточную массу тела – 25 (55,6%), что подтверждает данные об ожирении как факторе риска мертворождения [7].

Распределение мертворождений в зависимости от срока гестации не выявило существенных различий: в сроке беременности 22-27,6 нед. зарегистрировано 17 случаев (37,8%); 28-36,6 нед. – 14 (31,1%); 37-41,6 нед. – 14 (31,1%).

Выявлены основные причины, возможно повлекшие за собой гибель плодов: соматические заболевания матери – 10 (22,2%), внутриутробная инфекция плода – 8 (17, 8%), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты в 6 (13,3%), тяжелая преэклампсия – 5 (11,1%), врожденные пороки развития – 2 (4,4%), в 2 случаях (4,4%) зарегистрирована короткая пуповина и тугое обвитие шеи плода, причину установить не удалось – 12 (26,7%). Настоящие данные следует интерпретировать, учитывая относительно небольшое количество случаев. Примерно аналогичные данные приводят и другие авторы, так, у женщин, страдающих хроническими экстрагенитальными болезнями, шанс мертворождения в 22,4 раза выше [4].

Одну из наибольших групп составили случаи с невыясненной причиной – 26,7%. Как следует из обзора отечественной и международной литературы, какая-то часть случаев мертворождений остается необъяснимой, так как иногда даже при возможно полном обследовании, включая аутопсию и исследование плаценты, не удается выявить истинную причину, что требует дальнейшего анализа и изучения мертворождений, расширения диагностических возможностей используемых мето-

дик [3].

Заключение. Показатель мертворождаемости в акушерском стационаре третьего уровня аналогичен показателям сходных по характеристикам учреждений РФ. В 26,7% случаев причина мертворождаемости остается неизвестной.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REGIONAL FEATURES OF MORTINATALITY

N.N. GRANATOVICH, E.R. FROLOVA

Tula State University, 92, Lenin Av., Tula, 300012, Russia

Abstract. Mortinatality remains an urgent problem in modern practical obstetrics. The paper considers the cases of antenatal and intranatal fetal death in a hospital of the third level in the Tula region and an analysis of the causes of mortinatality. The research purpose was to determine the frequency and identify the risk factors of mortinatality. Materials and methods: a retrospective analysis of medical records (exchange cards, birth histories, protocols of abnormal placenta and autopsy studies) of all stillbirths in the Tula Regional Perinatal Center for 2016 was conducted. Results. The mortinatality rate was 9.2 per 1000 live births and deaths. The highest number of stillbirths occurred in women aged 36-40 years (28.9%). More than half of women were overweight or obese (55.6%). The main causes of stillbirths: maternal somatic diseases – 22.2%, fetal infection – 17.8%, premature detachment of the normally located placenta – 13.3%, severe preeclampsia – 11.1%, short cord and tight neck of fetus – 4.4%, congenital malformations – 4.4%, the cause was not established – 26.7%. Conclusion: the index of mortinatality in a midwifery hospital of the third level is similar to that of similar institutions of the Russian Federation. In 26.7% of cases the cause of mortinatality remains unknown.

Key words: perinatal mortality, mortinatality, parturition.

Литература

1. Волков В.Г. Перинатальная смертность среди ВИЧ-инфицированных беременных женщин // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, №3. С. 98–102.

2. Волков В.Г., Гранатович Н.Н. Основные причины материнской смертности в Тульской области в XXI в. // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. 2017. Т. 16, №2. С. 10–14.

3. Кукарская И.И., Ербактанова Т.А. Региональные аспекты мертворождаемости в Тюменской области в 2014 году // Медицинская наука и образование Урала. 2015. Т. 16, № 3 (83). С. 105–109.

4. Лемешевская Т.В., Прибушеня О.В. Прогнозирование мертворождения по результатам комбинированного скрининга I триместра беременности // Пренатальная диагностика. 2016. Т. 15, № 3. С. 213–218.

5. Мартыненко П.Г., Волков В.Г., Гранатович Н.Н.,

References

1. Volkov VG. Perinatal'naya smertnost' sredi VICH-inficirovannyh beremennyh zhenshchin [Perinatal mortality among HIV-infected pregnant women]. VICH-infekciya i immunosupressii. 2017;9(3):98-102. Russian.

2. Volkov VG, Granatovich NN. Osnovnye prichiny materinskoj smertnosti v Tul'skoj oblasti v XXI v. [The main causes of maternal mortality in the Tula region in the XXI century.]. Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obuchenie. 2017;16(2):10-4. Russian.

3. Kukarskaya II, Erbaktanova TA. Regional'nye aspekty mertvorozhdaemosti v Tyumenskoj oblasti v 2014 godu [Regional aspects of stillbirth in the Tyumen region in 2014]. Medicinskaya nauka i obrazovanie Urala. 2015;16(3(83)):105-9. Russian.

4. Lemeshevskaya TV, Pribushenya OV. Prognozirovanie mertvorozhdeniya po rezul'tatam kombinirovannogo skrininga I trimestra beremennosti [Prediction of stillbirth according to the results of combined screening for the first trimester of pregnancy]. Prenatal'naya diagnostika. 2016;15(3):213-8. Russian.

5. Martynenko PG, Volkov VG, Granatovich NN,

Хромушин В.А. Анализ факторов риска перинатальной смертности и уровень оказания медицинской помощи // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15, № 3. С. 213–214.

Khromushin VA. Analiz faktorov riska perinatal'noj smertnosti i uroven' okazaniya medicinskoj pomoshchi [Analysis of risk factors for perinatal mortality and the level of care]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii.2008;15(3):213-4. Russian.

6. Мартыненко П.Г., Волков В.Г., Гранатович Н.Н., Хромушин В.А. Анализ факторов риска перинатальной смертности // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15, № 3. С. 224.

6. Martynenko PG, Volkov VG, Granatovich NN, Khromushin VA. Analiz faktorov riska perinatal'noj smertnosti [Analysis of risk factors for perinatal mortality]. Vestnik novyh medicinskih tehnologij. 2008;15(3):224. Russian.

7. Сычева О.Ю., Волков В.Г., Копырин И.Ю. Оценка течения беременности и исхода родов при ожирении: ретроспективное когортное исследование // Проблемы женского здоровья. 2011.Т. 6, №4. С. 41–45.

7. Sycheva OYu, Volkov VG, Kopyrin IYu. Ocenka techeniya beremennosti i iskhoda rodov pri ozhirenii: retrospektivnoe kogortnoe issledovanie [Assessment of the course of pregnancy and the outcome of labor in obesity: a retrospective cohort study]. Problemy zhenskogo zdorov'ya. 2011;6(4):41-5. Russian.

8. Flenady V., Koopmans L., Middleton P., Froen J.F., Smith G.C., Gibbons K., Coory M., Gordon A., Ellwood D., McIntyre H.D. Major risk factors for stillbirth in high-income countries: a systematic review and meta-analysis // Lancet. 2011. Vol. 377, No. 9774. P. 1331–1340.

8. Flenady V, Koopmans L, Middleton P, Froen JF, Smith GC, Gibbons K, Coory M, Gordon A, Ellwood D, McIntyre HD, et al. Major risk factors for stillbirth in high-income countries: a systematic review and meta-analysis. Lancet. 2011;377(9774):1331-40.

9. Organization W.H. ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems: tenth revision. Geneva, 2004. P. 125.

9. Organization WH. ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems: tenth revision. Geneva; 2004.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 227–236

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 227–236

УДК: 614.1;519.8 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16080

МНОГОФАКТОРНЫЙ СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГЕБРАИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ КОНСТРУКТИВНОЙ ЛОГИКИ НА ПРИМЕРЕ БОЛЕЗНЕЙ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

К.Ю. КИТАНИНА, В.А. ХРОМУШИН, Э.М. НАУМОВА, С.Ю. ФЕДОРОВ

Тульский государственный университет, пр-т Ленина, д. 92, г. Тула, Россия, 300012,
e-mail: vik@khromushin.com

Аннотация. Современные методы многофакторного анализа позволяют выполнить углубленный анализ, в том числе на массивах статистической информации. Предлагаемый метод многофакторного анализа предполагает формирование массива с помощью алгоритма обобщенной оценки показателей здравоохранения, построение и последующий анализ математической модели с помощью алгебраической модели конструктивной логики. Выполненный с помощью предложенного метода анализ заболеваемости органов пищеварения подтверждает его работоспособность. Обобщенная оценка показателей здравоохранения позволила ранжировать регионы от наиболее проблемных к регионам с меньшей заболеваемостью населения. При этом обобщенная оценка является комплексной оценкой по всем шести анализируемым факторам с учетом их значимости. Одновременно с этим показана долевая значимость анализируемых факторов. Предусмотренная предложенной методикой математическая модель позволяет выполнять углубленный анализ показателей здравоохранения. Разработанные для алгебраической модели конструктивной логики методики и программные средства облегчают интерпретацию математической модели.

Ключевые слова: анализ, математическая модель, показатели здравоохранения, заболеваемость.

Актуальность. Важным аспектом изучения состояния здоровья населения является использование различных методов многофакторного анализа, существенно расширяющих возможности исследователя. Существующие методы многофакторного анализа позволяют выполнить углубленный анализ, в том числе на массивах статистической информации. В частности, для оценки значимости факторов можно использовать обобщенную оценку показателей здравоохранения, а для детального анализа воздействия этих факторов – *алгебраическую модель конструктивной логики* (АМКЛ), успешно используемую в медицине и биологии [4-6,11,12,14-17].

Материалы и методы исследования. Предлагаемый метод многофакторного анализа предполагает:

– формирование массива [3];

– построение АМКЛ [4-6,12,15].

В основу формирования массива данных для выполнения многофакторного анализа положен алгоритм обобщенной оценки показателей здравоохранения, предусматривающий [2,8,9]:

1. Выбор анализируемых факторов. В рассматриваемом случае – заболеваемость органов пищеварения на 100 тысяч населения [1]:

$Y1$, $X1$ – язва желудка и двенадцатиперстной кишки;

$Y2$, $X2$ – гастрит и дуоденит;

$Y3$, $X3$ – неинфекционный энтерит и колит;

$Y4$, $X4$ – болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей;

$Y5$, $X5$ – болезни поджелудочной железы;

$Y6$, $X6$ – болезни печени,

где X_i – региональные факторы, а Y_i - федеральные факторы.

2. Выбор коэффициентов относительной важности каждого фактора S_i. Для рассматриваемого случая выбраны как отношения абсолютных значений каждого фактора к болезням органов пищеварения в процентах: $S1$=7,23; $S2$=23,26; $S3$=2,3; $S4$=14,34; $S5$=7,66; $S6$=2,92).

Возможно использование экспертной оценки.

3. Вычисляются нормированные коэффициенты относительной важности: $Q_i=S_i / \sum S_i$.

4. Вычисляется относительное отклонение каждого фактора как $R_i=(Y_i - X_i) / Y_i$.

5. Вычисляется долевой вклад каждого фактора с учетом нормированного коэффициента относительной важности: $X_i\%=100\times R_i\times Q_i$.

6. Вычисляется итоговое значение обобщенной оценки показателей здравоохранения:

Itog=$\sum R_i \times Q_i$. Одновременно массив данных сортируется по убыванию (от плюса к минусу).

Результат вычислений за 2016 год приведен в табл. 1, в которой номера регионов соответствуют перечню регионов (табл. 2).

7. Формируется итоговый массив данных для многофакторного анализа, для чего вычисляется значение цели: если *Itog*>0,05, то *Y*=1 (табл. 2), где 0,05 – выбранный порог сравнения. При этом положительные значения *Itog* соответствуют ухудшению, а отрицательные значения улучшению ситуации с болезнями органов пищеварения в сравнении с показателями по Российской Федерации: *Y*1=849,1; *Y*2=2730,7; *Y*3=270,1; *Y*4=1683,2; *Y*5=899,4; *Y*6=343,0.

Для вычислений была использована специальная компьютерная программа. С ее помощью вычислены значения обобщенной оценки Itog и значимость анализируемых факторов *X*1, *X*2, *X*3, *X*4, *X*5, *X*6 в процентах.

Сбор статистической информации осуществлялся в рамках государственной статистической отчетности в Российской Федерации [1].

Результаты и их обсуждение. Выполненная обобщенная оценка показателей здравоохранения позволила ранжировать регионы (табл. 1 и 2) от наиболее проблемных (положительных значений *Itog*) до отрицательных значений (с меньшей смертностью населения). При этом обобщенная оценка *Itog* является комплексной оценкой по всем шести анализируемым факторам с учетом их значимости. Одновременно с этим показана долевая значимость анализируемых факторов.

Таблица 1

Болезни органов пищеварения на 100 тысяч населения России в 2016 году

N	*Itog*	*X1*	*X1%*	*X2*	*X2%*	*X3*	*X3%*	*X4*	*X4%*	*X5*	*X5%*	*X6*	*X6%*
69	1,19	2577	25,50	7358	68,30	455,8	2,74	2993	19,33	665	-3,46	778	6,41
19	0,58	1312	6,83	4789	30,38	1312	15,37	2016	4,91	713,8	-2,74	558	3,17
50	0,54	1164	4,64	4563	27,05	207,3	-0,93	2068	5,67	1566	9,84	835	7,25
22	0,45	536,1	-4,62	5076	34,61	536,1	3,92	1341	-5,05	1941	15,37	404	0,90
20	0,41	1228	5,59	4066	19,71	1228	14,14	1708	0,37	815	-1,25	497	2,27
56	0,37	936,2	1,29	3597	12,78	327,4	0,85	2226	8,02	1876	14,41	337	-0,09
21	0,36	1108	3,82	3838	16,34	1108	12,37	1502	-2,67	1265	5,39	422	1,16
37	0,35	1630	11,52	2588	-2,11	203,2	-0,99	3037	19,98	1335	6,42	383	0,59
71	0,34	1294	6,56	3372	9,46	259,3	-0,16	1995	4,60	1779	12,98	356	0,19
49	0,32	1356	7,48	3570	12,39	578,1	4,54	1818	1,98	989,7	1,33	610	3,94
57	0,27	1398	8,10	2644	-1,28	223	-0,69	2497	12,01	1562	9,78	258	-1,26
47	0,26	1544	10,25	3075	5,08	201,4	-1,01	2589	13,37	692,1	-3,06	417	1,09
70	0,25	1033	2,71	2708	-0,34	213,8	-0,83	2740	15,60	1553	9,65	213	-1,91
45	0,25	104,4	-10,99	3198	6,90	238,1	-0,47	2525	12,42	2008	16,36	373	0,45
77	0,18	479,7	-5,45	2880	2,20	738,1	6,91	2370	10,14	1107	3,06	411	1,00
27	0,17	1491	9,46	2379	-5,19	1491	18,01	1415	-3,96	527,4	-5,49	650	4,53
26	0,16	829,2	-0,29	2701	-0,44	829,2	8,25	2028	5,09	1246	5,11	243	-1,48
46	0,14	1318	6,92	2540	-2,81	348,8	1,16	2060	5,56	1006	1,57	442	1,45

Продолжение таблицы 1

N	*Itog*	*X1*	*X1%*	*X2*	*X2%*	*X3*	*X3%*	*X4*	*X4%*	*X5*	*X5%*	*X6*	*X6%*
3	0,13	1282	6,39	2201	-7,82	267	-0,05	1681	-0,03	1900	14,77	353	0,15
54	0,13	952,8	1,53	3192	6,81	191,1	-1,17	1712	0,42	1166	3,93	435	1,35
9	0,12	1228	5,59	2436	-4,36	153,3	-1,72	1462	-3,26	2135	18,23	194	-2,19
48	0,12	950,1	1,49	2998	3,94	236,6	-0,49	2338	9,67	708,6	-2,82	347	0,06
51	0,12	966,1	1,73	2929	2,93	497,3	3,35	1773	1,33	989,7	1,33	423	1,17
16	0,12	987,2	2,04	2448	-4,18	330,5	0,89	2005	4,75	1398	7,36	394	0,75
29	0,12	432,5	-6,15	3511	11,52	432,5	2,40	2195	7,55	703,7	-2,89	281	-0,91
4	0,11	1097	3,65	2520	-3,12	238,8	-0,46	1632	-0,75	1544	9,52	508	2,43
13	0,05	1061	3,13	2569	-2,38	351,5	1,20	2020	4,97	628,2	-4,00	480	2,02
65	0,04	982,1	1,96	3111	5,62	350,9	1,19	1434	-3,68	712	-2,77	468	1,84
81	0,04	1094	3,62	2152	-8,54	212,7	-0,85	1508	-2,59	1609	10,47	481	2,03
2	0,04	1120	4,00	2980	3,68	235,7	-0,51	1637	-0,68	658,6	-3,55	420	1,14
63	0,03	673,1	-2,60	2912	2,68	283,5	0,20	2154	6,95	595,8	-4,48	377	0,50
11	0,03	936,4	1,29	3434	10,38	317	0,69	1208	-7,02	701,3	-2,92	395	0,77
78	0,03	639	-3,10	3526	11,74	371,1	1,49	1326	-5,27	808,2	-1,35	275	-1,01
58	0,02	1020	2,51	2883	2,25	147,1	-1,81	1450	-3,44	945,2	0,68	495	2,23
36	0,02	610,2	-3,52	3041	4,58	361	1,34	1682	-0,02	825,8	-1,09	389	0,68
62	0,01	799	-0,74	2524	-3,06	415,6	2,15	2076	5,79	742,5	-2,32	310	-0,49
72	0,01	664,1	-2,73	3573	12,44	216,9	-0,78	1253	-6,36	877,7	-0,32	277	-0,97
55	0,00	997,6	2,19	1973	-11,19	164,5	-1,56	1945	3,86	1323	6,25	349	0,09
75	-0,02	597,2	-3,72	3463	10,81	251,5	-0,27	1527	-2,30	525,3	-5,52	299	-0,65
85	-0,03	707,8	-2,08	2638	-1,37	426,7	2,31	1442	-3,57	787,5	-1,65	602	3,82
64	-0,03	1107	3,81	3000	3,97	245,1	-0,37	1487	-2,90	426,8	-6,97	294	-0,72
23	-0,04	1031	2,68	2543	-2,76	1031	11,22	1326	-5,27	387,3	-7,56	212	-1,93
61	-0,04	754,8	-1,39	2574	-2,31	281,6	0,17	1949	3,93	573,4	-4,81	371	0,41
30	-0,05	749,8	-1,47	2673	-0,86	276,9	0,10	1753	1,03	608,4	-4,29	375	0,48
14	-0,05	969,4	1,77	2148	-8,60	308,6	0,57	1986	4,46	740,9	-2,34	270	-1,08
38	-0,05	683,4	-2,44	2170	-8,28	1154	13,04	1475	-3,07	397,7	-7,40	538	2,88
59	-0,06	1134	4,21	2429	-4,45	329,7	0,88	1637	-0,68	527,8	-5,48	333	-0,15
1	-0,06	1053	3,01	2828	1,44	221,1	-0,72	1005	-10,01	952,9	0,79	303	-0,59
42	-0,06	823,6	-0,38	1488	-18,35	386,6	1,72	2713	15,20	400,7	-7,36	536	2,84
76	-0,06	757,9	-1,35	2285	-6,58	374	1,53	2450	11,32	287,8	-9,03	182	-2,38
68	-0,08	514,2	-4,94	2670	-0,90	304,6	0,51	1921	3,51	540,4	-5,30	289	-0,80
28	-0,09	985,8	2,02	2172	-8,25	985,8	10,56	945,1	-10,90	724,3	-2,58	382	0,58
18	-0,09	611,6	-3,50	2912	2,68	136,9	-1,97	1683	-0,01	579,9	-4,72	211	-1,95
12	-0,12	1460	9,02	1826	-13,35	252,2	-0,26	1748	0,95	339,1	-8,27	312	-0,46
15	-0,13	793,8	-0,82	2692	-0,57	346,4	1,13	1481	-2,98	334	-8,34	272	-1,05
73	-0,13	799,9	-0,73	2679	-0,77	229,6	-0,60	1267	-6,15	663,9	-3,48	269	-1,09
6	-0,13	813,1	-0,53	2173	-8,23	342,4	1,07	1331	-5,21	791,6	-1,59	445	1,51
5	-0,13	1689	12,39	2259	-6,96	182,9	-1,29	769	-13,50	441	-6,77	545	2,99
33	-0,14	604,9	-3,60	2219	-7,56	261,4	-0,13	1253	-6,35	1127	3,36	383	0,59
34	-0,14	697,7	-2,23	2251	-7,08	178,1	-1,36	1419	-3,90	953,5	0,80	335	-0,12
53	-0,14	593,3	-3,77	2509	-3,28	160	-1,62	1419	-3,90	866,1	-0,49	264	-1,17
43	-0,14	664,8	-2,72	1894	-12,35	581,9	4,60	1507	-2,60	751,8	-2,18	401	0,85
83	-0,15	1116	3,94	1919	-11,98	127,2	-2,11	1234	-6,63	800,1	-1,47	562	3,24
66	-0,15	624,7	-3,31	2600	-1,93	231,9	-0,56	1439	-3,60	529,2	-5,46	321	-0,33
32	-0,15	1155	4,51	1756	-14,38	178,1	-1,36	1806	1,81	520,1	-5,60	323	-0,29
40	-0,15	590,2	-3,82	1523	-17,82	117,3	-2,25	2430	11,03	712,3	-2,76	357	0,20
39	-0,16	431,5	-6,16	1987	-10,98	288,1	0,27	1534	-2,21	1187	4,24	256	-1,28
79	-0,16	434,7	-6,11	2246	-7,15	117,2	-2,26	1417	-3,94	1140	3,55	320	-0,34
74	-0,17	702,1	-2,17	2257	-6,99	111,5	-2,34	1689	0,08	597	-4,46	265	-1,15
80	-0,19	945	1,41	2185	-8,06	146,6	-1,82	1345	-4,99	527,5	-5,49	367	0,36
60	-0,19	531,8	-4,68	2026	-10,40	308,4	0,57	1295	-5,73	967,7	1,01	334	-0,13
24	-0,20	479,9	-5,45	2181	-8,12	479,9	3,10	1423	-3,85	561,8	-4,98	288	-0,81
52	-0,20	1886	15,30	1605	-16,62	320,2	0,74	956,6	-10,73	362,1	-7,93	264	-1,17
35	-0,21	732,6	-1,72	1891	-12,40	122,7	-2,17	1428	-3,77	932,5	0,49	244	-1,46
7	-0,22	1235	5,69	1759	-14,35	351,4	1,20	1063	-9,16	689,7	-3,09	175	-2,48
44	-0,23	489,7	-5,30	1910	-12,12	211,7	-0,86	1476	-3,06	910,9	0,17	251	-1,36
17	-0,23	717,9	-1,94	2663	-0,99	204	-0,98	830,1	-12,59	594,4	-4,50	191	-2,25
41	-0,23	472,4	-5,56	1605	-16,62	98,8	-2,53	1330	-5,22	1521	9,17	162	-2,68
8	-0,24	1154	4,50	2227	-7,43	190	-1,18	695,1	-14,59	616,5	-4,18	246	-1,43
82	-0,25	1025	2,60	2133	-8,83	159,2	-1,64	1117	-8,36	408,6	-7,24	237	-1,56
31	-0,30	448,5	-5,91	2047	-10,09	148,5	-1,79	848,8	-12,32	1073	2,56	173	-2,50
10	-0,31	651,6	-2,91	1846	-13,06	185,3	-1,25	948	-10,85	793,1	-1,57	223	-1,77
84	-0,32	717	-1,95	1162	-23,15	175,2	-1,40	1721	0,56	561,6	-4,99	241	-1,51
67	-0,35	379,2	-6,93	2020	-10,48	312,1	0,62	889,9	-11,71	700,2	-2,94	129	-3,15
25	-0,43	641,8	-3,06	1386	-19,84	641,8	5,48	727	-14,12	299,1	-8,86	169	-2,57

Примечание: Перечень регионов России: 1. Белгородская область, 2. Брянская область, 3. Владимирская область, 4. Воронежская область, 5. Ивановская область, 6. Калужская область, 7. Костромская область, 8. Курская область, 9. Липецкая область,

Продолжение примечания к таблице 1.

10. Московская область, 11. Орловская область, 12. Рязанская область, 13. Смоленская область, 14. Тамбовская область, 15. Тверская область, 16. Тульская область, 17. Ярославская область, 18. Город Москва, 19. Республика Карелия, 20. Республика Коми, 21. Архангельская обл. без АО, 22. Ненецкий автономный округ, 23. Вологодская область, 24. Калининградская область, 25. Ленинградская область, 26. Мурманская область, 27. Новгородская область, 28. Псковская область, 29. Город Санкт - Петербург, 30. Республика Адыгея, 31. Республика Калмыкия, 32. Республика Крым, 33. Краснодарский край, 34. Астраханская область, 35. Волгоградская область, 36. Ростовская область, 37. Город Севастополь, 38. Республика Дагестан, 39. Республика Ингушетия, 40. Кабардино-Балкарская Респ., 41. Карачаево-Черкесская Респ., 42. Республика Северная Осетия – Алания, 43. Чеченская Республика, 44. Ставропольский край, 45. Республика Башкортостан, 46. Республика Марий Эл, 47. Республика Мордовия, 48. Республика Татарстан, 49. Удмуртская Республика, 50. Чувашская Республика, 51. Пермский край, 52. Кировская область, 53. Нижегородская область, 54. Оренбургская область, 55. Пензенская область, 56. Самарская область, 57. Саратовская область, 58. Ульяновская область, 59. Курганская область, 60. Свердловская область, 61. Тюменская область без АО, 62. Ханты-Мансийский авт. округ - Югра, 63. Ямало-Ненецкий авт. округ, 64. Челябинская область, 65. Республика Алтай, 66. Республика Бурятия, 67. Республика Тыва, 68. Республика Хакасия, 69. Алтайский край, 70. Забайкальский край, 71. Красноярский край, 72. Иркутская область, 73. Кемеровская область, 74. Новосибирская область, 75. Омская область, 76. Томская область, 77. Республика Саха (Якутия), 78. Камчатский край, 79. Приморский край, 80. Хабаровский край, 81. Амурская область, 82. Магаданская область, 83. Сахалинская область, 84. Еврейская авт. область, 85. Чукотский автономный округ

Таблица 2

Результирующий массив информации для многофакторного анализа с помощью алгебраической модели конструктивной логики

N	*Y*	*X1*	*X2*	*X3*	*X4*	*X5*	*X6*
1	0	1052,9	2828,3	221,1	1005,3	952,9	302,8
2	0	1120,3	2980,2	235,7	1637,1	658,6	420,2
3	1	1282	2201,2	267	1681	1900,1	352,9
4	1	1096,5	2519,6	238,8	1632,2	1544,4	507,5
5	0	1688,7	2258,9	182,9	769	441	545,4
6	0	813,1	2172,8	342,4	1330,6	791,6	445,2
7	0	1234,9	1758,8	351,4	1062,7	689,7	175
8	0	1154,4	2227,3	190	695,1	616,5	246,2
9	1	1228	2435,6	153,3	1462,4	2135	194,4
10	0	651,6	1846,2	185,3	948	793,1	222,9
11	0	936,4	3434	317	1207,8	701,3	395
12	0	1460,3	1826,2	252,2	1747,5	339,1	311,7
13	0	1061,1	2569,2	351,5	2020,2	628,2	479,6
14	0	969,4	2148,2	308,6	1985,6	740,9	269,9
15	0	793,8	2692,4	346,4	1481	334	271,9
16	1	987,2	2447,5	330,5	2005,1	1398,3	393,8
17	0	717,9	2663,3	204	830,1	594,4	190,6
18	0	611,6	2912,3	136,9	1682,5	579,9	211,1
19	1	1311,8	4789	1311,8	2016	713,8	558
20	1	1228,2	4066	1228,2	1708,2	815	496,7
21	1	1108,3	3837,6	1108,3	1502,3	1264,7	421,7
22	1	536,1	5075,5	536,1	1341,3	1941,2	403,8
23	0	1030,5	2543,4	1030,5	1325,9	387,3	212,1
24	0	479,9	2180,8	479,9	1422,5	561,8	288
25	0	641,8	1386,3	641,8	727	299,1	168,9

Продолжение таблицы 2

26	1	829,2	2701	829,2	2028,1	1245,6	243
27	1	1490,5	2378,8	1490,5	1415,2	527,4	649,8
28	0	985,8	2172	985,8	945,1	724,3	382
29	1	432,5	3511	432,5	2194,5	703,7	281,1
30	0	749,8	2672,5	276,9	1752,7	608,4	375,4
31	0	448,5	2047,1	148,5	848,8	1073,1	173,3
32	0	1155	1756,4	178,1	1806	520,1	323,3
33	0	604,9	2218,5	261,4	1253,3	1127,1	382,9
34	0	697,7	2251,2	178,1	1419,2	953,5	335,2
35	0	732,6	1890,9	122,7	1427,5	932,5	243,7
36	0	610,2	3041,1	361	1681,8	825,8	389,2
37	1	1630,2	2588	203,2	3036,8	1334,5	382,7
38	0	683,4	2170	1153,6	1475	397,7	538,2
39	0	431,5	1986,6	288,1	1533,7	1186,6	255,9
40	0	590,2	1523,1	117,3	2430,4	712,3	356,6
41	0	472,4	1604,8	98,8	1329,6	1520,5	161,6
42	0	823,6	1487,5	386,6	2712,9	400,7	535,6
43	0	664,8	1893,7	581,9	1507,1	751,8	400,7
44	0	489,7	1909,7	211,7	1476,2	910,9	250,9
45	1	104,4	3197,9	238,1	2524,5	2008,2	373,2
46	1	1318	2540,3	348,8	2059,9	1005,6	441,6
47	1	1543,6	3075,2	201,4	2588,9	692,1	416,7
48	1	950,1	2997,6	236,6	2338,2	708,6	347,1
49	1	1356,3	3570,1	578,1	1817,5	989,7	610,4
50	1	1163,6	4563,2	207,3	2067,5	1566	834,7
51	1	966,1	2929	497,3	1773,2	989,7	422,6
52	0	1886,1	1604,9	320,2	956,6	362,1	263,5
53	0	593,3	2508,8	160	1419,3	866,1	264
54	1	952,8	3192,1	191,1	1711,7	1165,8	434,8
55	0	997,6	1972,9	164,5	1944,8	1322,8	349,2
56	1	936,2	3596,8	327,4	2226,4	1876,1	337
57	1	1398	2644	223	2496,7	1562,4	257,8
58	0	1019,5	2883,1	147,1	1450	945,2	494,5
59	0	1134,2	2429,3	329,7	1636,9	527,8	332,6
60	0	531,8	2025,9	308,4	1295	967,7	334,2
61	0	754,8	2574,3	281,6	1949,4	573,4	370,5
62	0	799	2523,6	415,6	2075,5	742,5	310,1
63	0	673,1	2912	283,5	2153,7	595,8	376,7
64	0	1107,4	2999,8	245,1	1486,6	426,8	293,9
65	0	982,1	3111,2	350,9	1433,8	712	468
66	0	624,7	2600,2	231,9	1439,1	529,2	320,7
67	0	379,2	2020,4	312,1	889,9	700,2	129,3
68	0	514,2	2669,6	304,6	1921,1	540,4	288,6
69	1	2577,2	7357,8	455,8	2992,5	665	777,6
70	1	1032,8	2707,7	213,8	2739,7	1553,4	213,3
71	1	1293,8	3371,9	259,3	1995,1	1779,1	356,2
72	0	664,1	3573,4	216,9	1252,7	877,7	277,1
73	0	799,9	2678,7	229,6	1266,8	663,9	269,2
74	0	702,1	2257	111,5	1688,9	597	265
75	0	597,2	3463,2	251,5	1527,1	525,3	298,6
76	0	757,9	2284,6	374	2449,8	287,8	181,7
77	1	479,7	2879,5	738,1	2370	1106,6	411,1
78	0	639	3526,2	371,1	1326,1	808,2	274,6
79	0	434,7	2246,1	117,2	1416,6	1140,1	319,7
80	0	945	2184,8	146,6	1345,1	527,5	367,4
81	0	1094,3	2151,9	212,7	1508	1608,9	480,5
82	0	1025	2132,6	159,2	1117,2	408,6	237,1
83	0	1115,8	1919	127,2	1234,2	800,1	562,3
84	0	717	1162,4	175,2	1721	561,6	240,8
85	0	707,8	2637,7	426,7	1441,5	787,5	602,1

Сформированный по изложенной выше методике массив информации представлен в табл. 2, где *Y*=1 соответствует достижению цели, а *Y*=0 – не достижению цели.

Полученный массив данных с помощью АМКЛ был использован для построения математической модели [6,13,15,16]:

Файл: *E:\DUstat\ Base.txt*

Цель: *Y*.

Значение цели: 1.
Маска: *N*.
Совпало целевых и нецелевых строк: 0.

1. ***W*= 7**. (3573.4 < *X*2 <= 7357.8)
   Строки: 19; 20; 21; 22; 50; 56; 69;
2. ***W*=6**. (1608.9 < *X*5 <= 2135)
   Строки: 3; 9; 22; 45; 56; 71;
3. ***W*=6**. (1234.9 < *X*1 < 1460.3)
   Строки: 3; 19; 46; 49; 57; 71;
4. ***W*=4**. (2153.7 < *X*4 < 2430.4)
   Строки: 29; 48; 56; 77;
5. ***W*=4**. (420.2 < *X*6 < 445.2)
   Строки: 21; 46; 51; 54;
6. ***W*=4**. (1520.5 < *X*5 < 1608.9)
   Строки: 4; 50; 57; 70;
7. ***W*=3**. (1460.3 < *X*1 < 1688.7)
   Строки: 27; 37; 47;
8. ***W*=3**. (1985.6 < *X*5 < 2020.2)
   Строки: 16; 19; 71;
9. ***W*=3**. (2020.2 < *X*5 < 2075.5)
   Строки: 26; 46; 50.

Примечания:

– номера строк совпадают с номерами регионов в табл. 1 и 2., а число строк – со значением мощности *W* результирующей составляющей;

– все результирующие составляющие объединены между собой через знак дизъюнкции.

Из полученной математической модели видно:

1. Результирующие составляющие представлены не сочетанными факторами, что свидетельствует об удачном их выборе и о простоте интерпретации результата.

2. Для регионов, перечисленных в виде номеров строк в первой наиболее мощной результирующей составляющей, характерным является фактор *X*2 с диапазоном (3573.4 < *X*2 <= 7357.8).

3. Фактор *X*5 характеризует регионы, перечисленные в результирующих составляющих 2, 6, 8, 9 интервалами с небольшими промежутками. При этом наблюдается пересечение интервалов результирующих составляющих 2 и 8. Это пересечение характеризуется интервалом 1985,6 - 2135 и мощностью 9.

4. Фактор *X*1 характеризует регионы, перечисленные в результирующих составляющих 3, 7 с двумя неперекрывающимися интервалами.

5. Фактор *X*6 характеризует регионы, перечисленные в результирующей составляющей 6.

Представленная методика многофакторного статистического анализа пояснена сравнительно простым примером анализа заболеваемости органов пищеварения. Для более сложных случаев результат может быть представлен сочетанными факторами и для интерпретации результата может потребоваться выделение главных результирующих составляющих, что можно будет сделать с помощью разработанных методов и компьютерной программы анализа результирующих составляющих [6,7,9,14].

Выводы:

1. Предложенную методику можно использовать для многофакторного статистического анализа, что подтверждено рассмотренным примером.

2. Предусмотренная предложенной методикой математическая модель позволяет выполнять углубленный анализ показателей здравоохранения.

3. Разработанные для АМКЛ методики и программные средства облегчают интерпретацию математической модели.

MULTIVARIATE STATISTICAL ANALYSIS USING AN ALGEBRAIC MODEL OF CONSTRUCTIVE LOGIC AS EXEMPLIFIED BY DISEASES OF THE DIGESTIVE SYSTEM

K.YU. KITANINA, V.A. KHROMUSHIN, E.M. NAUMOVA, S.YU. FEDOROV

Tula State University, Lenina Ave. 92, Tula, Russia, 300012, e-mail: vik@khromushin.com

Abstract. Modern methods of multivariate analysis make it possible to perform in-depth analysis, inter alia, of statistical data arrays. The proposed method of multivariate analysis involves formation of an array using an algorithm for generalized estimation of health indicators, construction and subsequent analysis of a mathematical model using the algebraic model of constructive logic. The digestive system morbidity analysis carried out using the proposed method confirms its efficiency. Generalized estimator of health indicators made it possible to rank the regions from the most problematic ones to ones with lesser morbidity of population. At the same time, the generalized estimator is a comprehensive estimator of all six of the analysed factors taking into account their significance. Furthermore, the fractional contribution of the analysed factors is also demonstrated. The mathematical model envisaged by the proposed procedure makes it

possible to perform in-depth analysis of health indicators. The procedures and software tools designed for the algebraic model of constructive logic facilitate the interpretation of the mathematical model.

Key words: analysis, mathematical model, health indicators, morbidity.

Rationale. An important aspect of studying public health is the use of various methods of multivariate analysis, which significantly expand a researcher's opportunities. The existing methods of multivariate analysis make it possible to perform in-depth analysis, inter alia, of statistical data arrays. In particular, in order to estimate the significance of factors one use generalized estimation of health indicators, and for detailed analysis of the impact of these factors – an *algebraic model of constructive logic* (AMCL), which is successfully used in medicine and biology [4-6,11,12,14-17].

Material and methods. The proposed method of multivariate analysis suggests the following:

– forming an array [3];

– constructing an AMCL [4-6,12,15].

Formation of the data array for performing the multivariate analysis is based on an algorithm of generalized estimation of health indicators which suggests the following [2,8,9]:

1. Selection of the analysed factors. In the case under study – the digestive system morbidity per 100,000 of population [1]:

*Y*1, *X*1 – gastric and duodenal ulcer;

*Y*2, *X*2 – gastritis and duodenitis;

*Y*3, *X*3 – noninfective enteritis and colitis;

*Y*4, *X*4 – disorders of gallbladder and biliary tract;

*Y*5, *X*5 – disorders of pancreas;

*Y*6, *X*6 – diseases of liver,

where *X*i – regional factors, and *Y*i – federal factors.

2. Selection of the coefficients of relative importance of each factor S_i. For the case under study they were selected as correlations of the absolute values of each factor to the diseases of the digestive system, in percentage terms: *S*1=7.23; *S*2=23.26; *S*3=2.3; *S*4=14.34; *S*5=7.66; *S*6=2.92).

Using expert review is also possible.

3. Calculation of the standardized coefficients of relative importance: $Q_i = S_i / \sum S_i$.

4. Calculation of the relative deviation of each factor as $R_i = (Y_i - X_i) / Y_i$.

5. Calculation of the fractional contribution of each factor taking into account the standardized coefficient of relative importance: $X_i\%=100\times R_i\times Q_i$.

6. Calculation of the final value of the generalized estimator of health indicators: $Itog=\sum R_i\times Q_i$. At the same time, the data array is sorted in descending order (from plus to minus).

The results of the calculation for the year 2016 are presented in Table 1, where the numbers of regions correspond to the list of regions (Table 2).

7. Formation of the final data array for multivariate analysis, for which purpose the target value is calculated: if *Itog*> 0.05, then *Y*=1 (Table 2), where 0.05 is the selected comparison threshold. Thus, positive *Itog* values correspond to deterioration, while negative values correspond to improvement of the situation in the sphere of digestive organs diseases as compared to the indicators for the Russian Federation as a whole: *Y*1=849.1; *Y*2=2730.7; *Y*3=270.1; *Y*4=1683.2; *Y*5=899.4; *Y*6=343.0.

A special computer program was used for the calculations. It was used to calculate the values of the generalized estimator *Itog* and the importance of the analysed factors *X*1, *X*2, *X*3, *X*4, *X*5, *X*6 in percentage terms.

Collection of statistical information was carried out in the framework of the state statistical reporting in the Russian Federation [1].

Results and discussion. The performed generalized estimation of health indicators made it possible to rank the regions (Tables 1 and 2) from the most problematic ones (positive values of *Itog*) to those with negative values (lower mortality). Furthermore, the generalized estimator *Itog* is a comprehensive estimator of all six of the analysed factors taking into account their significance. At the same time, the fractional contribution of the analysed factors is also demonstrated.

Table 1

Diseases of the digestive system per 100,000 population of Russia in 2016

N	*Itog*	*X1*	*X1%*	*X2*	*X2%*	*X3*	*X3%*	*X4*	*X4%*	*X5*	*X5%*	*X6*	*X6%*
69	1,19	2577	25,50	7358	68,30	455,8	2,74	2993	19,33	665	-3,46	778	6,41
19	0,58	1312	6,83	4789	30,38	1312	15,37	2016	4,91	713,8	-2,74	558	3,17
50	0,54	1164	4,64	4563	27,05	207,3	-0,93	2068	5,67	1566	9,84	835	7,25
22	0,45	536,1	-4,62	5076	34,61	536,1	3,92	1341	-5,05	1941	15,37	404	0,90
20	0,41	1228	5,59	4066	19,71	1228	14,14	1708	0,37	815	-1,25	497	2,27
56	0,37	936,2	1,29	3597	12,78	327,4	0,85	2226	8,02	1876	14,41	337	-0,09
21	0,36	1108	3,82	3838	16,34	1108	12,37	1502	-2,67	1265	5,39	422	1,16
37	0,35	1630	11,52	2588	-2,11	203,2	-0,99	3037	19,98	1335	6,42	383	0,59
71	0,34	1294	6,56	3372	9,46	259,3	-0,16	1995	4,60	1779	12,98	356	0,19
49	0,32	1356	7,48	3570	12,39	578,1	4,54	1818	1,98	989,7	1,33	610	3,94
57	0,27	1398	8,10	2644	-1,28	223	-0,69	2497	12,01	1562	9,78	258	-1,26
47	0,26	1544	10,25	3075	5,08	201,4	-1,01	2589	13,37	692,1	-3,06	417	1,09
70	0,25	1033	2,71	2708	-0,34	213,8	-0,83	2740	15,60	1553	9,65	213	-1,91
45	0,25	104,4	-10,99	3198	6,90	238,1	-0,47	2525	12,42	2008	16,36	373	0,45
77	0,18	479,7	-5,45	2880	2,20	738,1	6,91	2370	10,14	1107	3,06	411	1,00
27	0,17	1491	9,46	2379	-5,19	1491	18,01	1415	-3,96	527,4	-5,49	650	4,53
26	0,16	829,2	-0,29	2701	-0,44	829,2	8,25	2028	5,09	1246	5,11	243	-1,48
46	0,14	1318	6,92	2540	-2,81	348,8	1,16	2060	5,56	1006	1,57	442	1,45

Continuation of table 1

N	Itog	X1	X1%	X2	X2%	X3	X3%	X4	X4%	X5	X5%	X6	X6%
3	0,13	1282	6,39	2201	-7,82	267	-0,05	1681	-0,03	1900	14,77	353	0,15
54	0,13	952,8	1,53	3192	6,81	191,1	-1,17	1712	0,42	1166	3,93	435	1,35
9	0,12	1228	5,59	2436	-4,36	153,3	-1,72	1462	-3,26	2135	18,23	194	-2,19
48	0,12	950,1	1,49	2998	3,94	236,6	-0,49	2338	9,67	708,6	-2,82	347	0,06
51	0,12	966,1	1,73	2929	2,93	497,3	3,35	1773	1,33	989,7	1,33	423	1,17
16	0,12	987,2	2,04	2448	-4,18	330,5	0,89	2005	4,75	1398	7,36	394	0,75
29	0,12	432,5	-6,15	3511	11,52	432,5	2,40	2195	7,55	703,7	-2,89	281	-0,91
4	0,11	1097	3,65	2520	-3,12	238,8	-0,46	1632	-0,75	1544	9,52	508	2,43
13	0,05	1061	3,13	2569	-2,38	351,5	1,20	2020	4,97	628,2	-4,00	480	2,02
65	0,04	982,1	1,96	3111	5,62	350,9	1,19	1434	-3,68	712	-2,77	468	1,84
81	0,04	1094	3,62	2152	-8,54	212,7	-0,85	1508	-2,59	1609	10,47	481	2,03
2	0,04	1120	4,00	2980	3,68	235,7	-0,51	1637	-0,68	658,6	-3,55	420	1,14
63	0,03	673,1	-2,60	2912	2,68	283,5	0,20	2154	6,95	595,8	-4,48	377	0,50
11	0,03	936,4	1,29	3434	10,38	317	0,69	1208	-7,02	701,3	-2,92	395	0,77
78	0,03	639	-3,10	3526	11,74	371,1	1,49	1326	-5,27	808,2	-1,35	275	-1,01
58	0,02	1020	2,51	2883	2,25	147,1	-1,81	1450	-3,44	945,2	0,68	495	2,23
36	0,02	610,2	-3,52	3041	4,58	361	1,34	1682	-0,02	825,8	-1,09	389	0,68
62	0,01	799	-0,74	2524	-3,06	415,6	2,15	2076	5,79	742,5	-2,32	310	-0,49
72	0,01	664,1	-2,73	3573	12,44	216,9	-0,78	1253	-6,36	877,7	-0,32	277	-0,97
55	0,00	997,6	2,19	1973	-11,19	164,5	-1,56	1945	3,86	1323	6,25	349	0,09
75	-0,02	597,2	-3,72	3463	10,81	251,5	-0,27	1527	-2,30	525,3	-5,52	299	-0,65
85	-0,03	707,8	-2,08	2638	-1,37	426,7	2,31	1442	-3,57	787,5	-1,65	602	3,82
64	-0,03	1107	3,81	3000	3,97	245,1	-0,37	1487	-2,90	426,8	-6,97	294	-0,72
23	-0,04	1031	2,68	2543	-2,76	1031	11,22	1326	-5,27	387,3	-7,56	212	-1,93
61	-0,04	754,8	-1,39	2574	-2,31	281,6	0,17	1949	3,93	573,4	-4,81	371	0,41
30	-0,05	749,8	-1,47	2673	-0,86	276,9	0,10	1753	1,03	608,4	-4,29	375	0,48
14	-0,05	969,4	1,77	2148	-8,60	308,6	0,57	1986	4,46	740,9	-2,34	270	-1,08
38	-0,05	683,4	-2,44	2170	-8,28	1154	13,04	1475	-3,07	397,7	-7,40	538	2,88
59	-0,06	1134	4,21	2429	-4,45	329,7	0,88	1637	-0,68	527,8	-5,48	333	-0,15
1	-0,06	1053	3,01	2828	1,44	221,1	-0,72	1005	-10,01	952,9	0,79	303	-0,59
42	-0,06	823,6	-0,38	1488	-18,35	386,6	1,72	2713	15,20	400,7	-7,36	536	2,84
76	-0,06	757,9	-1,35	2285	-6,58	374	1,53	2450	11,32	287,8	-9,03	182	-2,38
68	-0,08	514,2	-4,94	2670	-0,90	304,6	0,51	1921	3,51	540,4	-5,30	289	-0,80
28	-0,09	985,8	2,02	2172	-8,25	985,8	10,56	945,1	-10,90	724,3	-2,58	382	0,58
18	-0,09	611,6	-3,50	2912	2,68	136,9	-1,97	1683	-0,01	579,9	-4,72	211	-1,95
12	-0,12	1460	9,02	1826	-13,35	252,2	-0,26	1748	0,95	339,1	-8,27	312	-0,46
15	-0,13	793,8	-0,82	2692	-0,57	346,4	1,13	1481	-2,98	334	-8,34	272	-1,05
73	-0,13	799,9	-0,73	2679	-0,77	229,6	-0,60	1267	-6,15	663,9	-3,48	269	-1,09
6	-0,13	813,1	-0,53	2173	-8,23	342,4	1,07	1331	-5,21	791,6	-1,59	445	1,51
5	-0,13	1689	12,39	2259	-6,96	182,9	-1,29	769	-13,50	441	-6,77	545	2,99
33	-0,14	604,9	-3,60	2219	-7,56	261,4	-0,13	1253	-6,35	1127	3,36	383	0,59
34	-0,14	697,7	-2,23	2251	-7,08	178,1	-1,36	1419	-3,90	953,5	0,80	335	-0,12
53	-0,14	593,3	-3,77	2509	-3,28	160	-1,62	1419	-3,90	866,1	-0,49	264	-1,17
43	-0,14	664,8	-2,72	1894	-12,35	581,9	4,60	1507	-2,60	751,8	-2,18	401	0,85
83	-0,15	1116	3,94	1919	-11,98	127,2	-2,11	1234	-6,63	800,1	-1,47	562	3,24
66	-0,15	624,7	-3,31	2600	-1,93	231,9	-0,56	1439	-3,60	529,2	-5,46	321	-0,33
32	-0,15	1155	4,51	1756	-14,38	178,1	-1,36	1806	1,81	520,1	-5,60	323	-0,29
40	-0,15	590,2	-3,82	1523	-17,82	117,3	-2,25	2430	11,03	712,3	-2,76	357	0,20
39	-0,16	431,5	-6,16	1987	-10,98	288,1	0,27	1534	-2,21	1187	4,24	256	-1,28
79	-0,16	434,7	-6,11	2246	-7,15	117,2	-2,26	1417	-3,94	1140	3,55	320	-0,34
74	-0,17	702,1	-2,17	2257	-6,99	111,5	-2,34	1689	0,08	597	-4,46	265	-1,15
80	-0,19	945	1,41	2185	-8,06	146,6	-1,82	1345	-4,99	527,5	-5,49	367	0,36
60	-0,19	531,8	-4,68	2026	-10,40	308,4	0,57	1295	-5,73	967,7	1,01	334	-0,13
24	-0,20	479,9	-5,45	2181	-8,12	479,9	3,10	1423	-3,85	561,8	-4,98	288	-0,81
52	-0,20	1886	15,30	1605	-16,62	320,2	0,74	956,6	-10,73	362,1	-7,93	264	-1,17
35	-0,21	732,6	-1,72	1891	-12,40	122,7	-2,17	1428	-3,77	932,5	0,49	244	-1,46
7	-0,22	1235	5,69	1759	-14,35	351,4	1,20	1063	-9,16	689,7	-3,09	175	-2,48
44	-0,23	489,7	-5,30	1910	-12,12	211,7	-0,86	1476	-3,06	910,9	0,17	251	-1,36
17	-0,23	717,9	-1,94	2663	-0,99	204	-0,98	830,1	-12,59	594,4	-4,50	191	-2,25
41	-0,23	472,4	-5,56	1605	-16,62	98,8	-2,53	1330	-5,22	1521	9,17	162	-2,68
8	-0,24	1154	4,50	2227	-7,43	190	-1,18	695,1	-14,59	616,5	-4,18	246	-1,43
82	-0,25	1025	2,60	2133	-8,83	159,2	-1,64	1117	-8,36	408,6	-7,24	237	-1,56
31	-0,30	448,5	-5,91	2047	-10,09	148,5	-1,79	848,8	-12,32	1073	2,56	173	-2,50
10	-0,31	651,6	-2,91	1846	-13,06	185,3	-1,25	948	-10,85	793,1	-1,57	223	-1,77
84	-0,32	717	-1,95	1162	-23,15	175,2	-1,40	1721	0,56	561,6	-4,99	241	-1,51
67	-0,35	379,2	-6,93	2020	-10,48	312,1	0,62	889,9	-11,71	700,2	-2,94	129	-3,15
25	-0,43	641,8	-3,06	1386	-19,84	641,8	5,48	727	-14,12	299,1	-8,86	169	-2,57

Note: The list of regions of Russia: 1. Belgorod Region, 2. Bryansk Region, 3. Vladimir Region, 4. Voronezh Region, 5. Ivanovo Region, 6. Kaluga Region, 7. Kostroma Region, 8. Kursk Region, 9. Lipetsk Region, 10. Moscow Region, 11. Orel Region, 12. Ryazan Region, 13. Smolensk Region,

Continuation of the note to table 1

14. Tambov Region, 15. Tver Region, 16. Tula Region, 17. Yaroslavl Region, 18. Moscow, 19. Republic of Karelia, 20. Komi Republic, 21. Arkhangelsk Region without Autonomous District, 22. Nenets Autonomous District, 23. Vologda Region, 24. Kaliningrad Region, 25. Leningrad, 26. Murmansk Region, 27. Novgorod Region, 28. Pskov Region, 29. Saint-Petersburg, 30. Republic of Adygea, 31. Republic of Kalmykia, 32. Republic of Crimea, 33. Krasnodar, 34. Astrakhan Region, 35. Volgograd Region, 36. Rostov Region, 37. The city of Sevastopol, 38. Republic of Dagestan, 39. Republic of Ingushetia, 40. Kabardino-Balkar Republic, 41. Karachay-Cherkess Republic, 42. Republic of North Ossetia - Alania, 43. Chechen Republic, 44. Stavropol, 45. Republic of Bashkortostan, 46. Mari El Republic, 47. Republic of Mordovia, 48. Republic of Tatarstan, 49. Udmurt Republic, 50. Chuvash Republic, 51. Perm Territory, 52. Kirov Region, 53. Nizhny Novgorod Region, 54. Orenburg Region, 55. Penza Region, 56. Samara Region, 57. Saratov Region, 58. Ulyanovsk Region, 59. Kurgan Region, 60. Sverdlovsk Region, 61. Tyumen Region without Autonomous District, 62. Khanty-Mansi Autonomous District – Yugra, 63. Yamalo-Nenets Autonomous District, 64. Chelyabinsk Region, 65. Altai Republic, 66. Republic of Buryatia, 67. Tyva Republic, 68. Republic of Khakassia, 69. Altai Territory, 70. Trans-Baikal Territory 71. Krasnoyarsk Territory, 72. Irkutsk Region, 73. Kemerovo Region, 74. Novosibirsk Region, 75. Omsk Region, 76. Tomsk Region, 77. Republic of Sakha (Yakutia), 78. Kamchatka Territory, 79. Primorsky Territory, 80. Khabarovsk Territory, 81. Amur Region, 82. Magadan Region, 83. Sakhalin Region, 84. Jewish Autonomous Region, 85. Chukotka Autonomous District

The data array formed according to the procedure described above is presented in Table 2, where *Y*=1 corresponds to achieving the target, and *Y*=0 corresponds to a failure to achieve the target.

Table 2

The resulting data array for multivariate analysis using algebraic model of constructive logic

N	Y	X1	X2	X3	X4	X5	X6
1	0	1052,9	2828,3	221,1	1005,3	952,9	302,8
2	0	1120,3	2980,2	235,7	1637,1	658,6	420,2
3	1	1282	2201,2	267	1681	1900,1	352,9
4	1	1096,5	2519,6	238,8	1632,2	1544,4	507,5
5	0	1688,7	2258,9	182,9	769	441	545,4
6	0	813,1	2172,8	342,4	1330,6	791,6	445,2
7	0	1234,9	1758,8	351,4	1062,7	689,7	175
8	0	1154,4	2227,3	190	695,1	616,5	246,2
9	1	1228	2435,6	153,3	1462,4	2135	194,4
10	0	651,6	1846,2	185,3	948	793,1	222,9
11	0	936,4	3434	317	1207,8	701,3	395
12	0	1460,3	1826,2	252,2	1747,5	339,1	311,7
13	0	1061,1	2569,2	351,5	2020,2	628,2	479,6
14	0	969,4	2148,2	308,6	1985,6	740,9	269,9
15	0	793,8	2692,4	346,4	1481	334	271,9
16	1	987,2	2447,5	330,5	2005,1	1398,3	393,8
17	0	717,9	2663,3	204	830,1	594,4	190,6
18	0	611,6	2912,3	136,9	1682,5	579,9	211,1
19	1	1311,8	4789	1311,8	2016	713,8	558
20	1	1228,2	4066	1228,2	1708,2	815	496,7
21	1	1108,3	3837,6	1108,3	1502,3	1264,7	421,7
22	1	536,1	5075,5	536,1	1341,3	1941,2	403,8
23	0	1030,5	2543,4	1030,5	1325,9	387,3	212,1
24	0	479,9	2180,8	479,9	1422,5	561,8	288
25	0	641,8	1386,3	641,8	727	299,1	168,9

Continuation of table 1

26	1	829,2	2701	829,2	2028,1	1245,6	243
27	1	1490,5	2378,8	1490,5	1415,2	527,4	649,8
28	0	985,8	2172	985,8	945,1	724,3	382
29	1	432,5	3511	432,5	2194,5	703,7	281,1
30	0	749,8	2672,5	276,9	1752,7	608,4	375,4
31	0	448,5	2047,1	148,5	848,8	1073,1	173,3
32	0	1155	1756,4	178,1	1806	520,1	323,3
33	0	604,9	2218,5	261,4	1253,3	1127,1	382,9
34	0	697,7	2251,2	178,1	1419,2	953,5	335,2
35	0	732,6	1890,9	122,7	1427,5	932,5	243,7
36	0	610,2	3041,1	361	1681,8	825,8	389,2
37	1	1630,2	2588	203,2	3036,8	1334,5	382,7
38	0	683,4	2170	1153,6	1475	397,7	538,2
39	0	431,5	1986,6	288,1	1533,7	1186,6	255,9
40	0	590,2	1523,1	117,3	2430,4	712,3	356,6
41	0	472,4	1604,8	98,8	1329,6	1520,5	161,6
42	0	823,6	1487,5	386,6	2712,9	400,7	535,6
43	0	664,8	1893,7	581,9	1507,1	751,8	400,7
44	0	489,7	1909,7	211,7	1476,2	910,9	250,9
45	1	104,4	3197,9	238,1	2524,5	2008,2	373,2
46	1	1318	2540,3	348,8	2059,9	1005,6	441,6
47	1	1543,6	3075,2	201,4	2588,9	692,1	416,7
48	1	950,1	2997,6	236,6	2338,2	708,6	347,1
49	1	1356,3	3570,1	578,1	1817,5	989,7	610,4
50	1	1163,6	4563,2	207,3	2067,5	1566	834,7
51	1	966,1	2929	497,3	1773,2	989,7	422,6
52	0	1886,1	1604,9	320,2	956,6	362,1	263,5
53	0	593,3	2508,8	160	1419,3	866,1	264
54	1	952,8	3192,1	191,1	1711,7	1165,8	434,8
55	0	997,6	1972,9	164,5	1944,8	1322,8	349,2
56	1	936,2	3596,8	327,4	2226,4	1876,1	337
57	1	1398	2644	223	2496,7	1562,4	257,8
58	0	1019,5	2883,1	147,1	1450	945,2	494,5
59	0	1134,2	2429,3	329,7	1636,9	527,8	332,6
60	0	531,8	2025,9	308,4	1295	967,7	334,2
61	0	754,8	2574,3	281,6	1949,4	573,4	370,5
62	0	799	2523,6	415,6	2075,5	742,5	310,1
63	0	673,1	2912	283,5	2153,7	595,8	376,7
64	0	1107,4	2999,8	245,1	1486,6	426,8	293,9
65	0	982,1	3111,2	350,9	1433,8	712	468
66	0	624,7	2600,2	231,9	1439,1	529,2	320,7
67	0	379,2	2020,4	312,1	889,9	700,2	129,3
68	0	514,2	2669,6	304,6	1921,1	540,4	288,6
69	1	2577,2	7357,8	455,8	2992,5	665	777,6
70	1	1032,8	2707,7	213,8	2739,7	1553,4	213,3
71	1	1293,8	3371,9	259,3	1995,1	1779,1	356,2
72	0	664,1	3573,4	216,9	1252,7	877,7	277,1
73	0	799,9	2678,7	229,6	1266,8	663,9	269,2
74	0	702,1	2257	111,5	1688,9	597	265
75	0	597,2	3463,2	251,5	1527,1	525,3	298,6
76	0	757,9	2284,6	374	2449,8	287,8	181,7
77	1	479,7	2879,5	738,1	2370	1106,6	411,1
78	0	639	3526,2	371,1	1326,1	808,2	274,6
79	0	434,7	2246,1	117,2	1416,6	1140,1	319,7
80	0	945	2184,8	146,6	1345,1	527,5	367,4
81	0	1094,3	2151,9	212,7	1508	1608,9	480,5
82	0	1025	2132,6	159,2	1117,2	408,6	237,1
83	0	1115,8	1919	127,2	1234,2	800,1	562,3
84	0	717	1162,4	175,2	1721	561,6	240,8
85	0	707,8	2637,7	426,7	1441,5	787,5	602,1

The resulting data array using AMCL was used to construct a mathematical model [6, 13, 15, 16]:

File: *E*: \ *DUstat* \ *Base.txt*

Target: *Y*.

Target value: 1.

Mask: *N*.

Number of coinciding target and non-target rows: 0.

1. ***W*=7**. (3573.4 <X2 <= 7357.8)
   Rows: 19; 20; 21; 22; 50; 56; 69;
2. ***W*=6**. (1608.9 <X5 <= 2135)
   Rows: 3; 9; 22; 45; 56; 71;
3. ***W*=6**. (1234.9 <X1 <1460.3)
   Rows: 3; 19; 46; 49; 57; 71;
4. ***W*=4**. (2153.7 <X4 <2430.4)
   Rows: 29; 48; 56; 77;
5. ***W*=4**. (420.2 <X6 <445.2)
   Rows: 21; 46; 51; 54;
6. ***W*=4**. (1520.5 <X5 <1608.9)
   Rows: 4; 50; 57; 70;
7. ***W*=3**. (1460.3 <X1 <1688.7)
   Rows: 27; 37; 47;
8. ***W*=3**. (1985.6 <X5 <2020.2)
   Rows: 16; 19; 71;
9. ***W*=3**. (2020.2 <X5 <2075.5)
   Rows: 26; 46; 50.

Notes:

– row numbers coincide with the numbers of regions in Tables 1 and 2, and the number of rows – with the value of size *W* of the resulting component;

– all the resulting components are joined by disjunction symbol.

The resulting mathematical model makes the following obvious:

1. The resulting components are presented by non-combined factors, which testifies to their successful choice and to the ease of interpretation of the result.

2. The regions listed in the form of row numbers in the first of the resulting components with the greatest size are characterized by the factor *X*2 with the range (3573.4 <*X*2 <= 7357.8).

3. Factor *X*5 characterizes the regions listed in the resulting components 2, 6, 8, 9 by intervals with small spaces, with an intersection of the intervals of the resulting components 2 and 8. This intersection is characterized by an interval 1985.6 - 2135, and by size 9.

4. Factor *X*1 characterizes the regions listed in the resulting components 3, 7 with two non-overlapping intervals.

5. Factor *X*6 characterizes the regions listed in the resulting component 6.

The presented method of multivariate statistical analysis is illustrated by a relatively simple example of analysis of the morbidity of the digestive system. For more complicated cases, the results may be presented using combined factors, and interpretation of the results may require identification of the main resulting components, which can be achieved by using the developed methods

and the computer program for the analysis of the resulting components [6,7,9,14].

Conclusions:

1. The proposed procedure can be used for multivariate statistical analysis, which is confirmed by the example presented herein.

2. The mathematical model envisaged by the proposed procedure makes it possible to carry out in-depth analysis of health indicators.

3. The procedures and software tools designed for AMCL facilitate interpretation of the mathematical model.

Литература

1. Александрова Г.А., Поликарпов А.В., Голубев Н.А., Оськов Ю.И., Кадулина Н.А., Беляева И.М., Гладких Т.Е., Щербакова Г.А., Семенова Т.А. Заболеваемость всего населения. Статистические материалы. Часть II. М., 2017. 243 с.

2. Китанина К.Ю., Хромушин В.А. Анализ инвалидности населения Тульской области // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2012. №1. Публикация 1-1. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2012-1/3717.pdf (дата обращения 21.02.2012).

3. Китанина К.Ю., Хромушин В.А., Федоров С.Ю., Хромушин О.В. Формирование аналитических массивов данных для многофакторного анализа с использованием алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №3. Публикация 1-2. URL: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/ Bulletin/E2015-3/5219.pdf (дата обращения: 07.09.2015). DOI: 10.12737/13074.

4. Китанина К.Ю., Хромушин В.А., Аверьянова Д.А. Совершенствование методов исследования здоровья населения с использованием алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. 2015. Т. 22, №3. С. 8–14. DOI:10.12737/13291

5. Китанина К.Ю. Методология многофакторного исследования здоровья населения с использованием алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. 2016. №3. С. 14–22. DOI: 10.12737/21743.

6. Лебедев М.В., Аверьянова Д.А., Хромушин В.А., Ластовецкий А.Г. Травматизм в дорожно-транспортных происшествиях: аналитические исследования с использованием алгебраической модели конструктивной логики. Учебное пособие.

References

1. Alexandrova GA, Polikarpov AV, Golubev NA, Os’kov YuI, Kadulina NA, Belyaeva IM, Gladkikh TE, Shcherbakova GA, Semenova TA. Zabolevayemost vsego naseleniya. Statisticheskiye materialy [Morbidity of the whole population. Statistical materials]. Part II. Moscow; 2017. Russian.

2. Kitanina KYu, Khromushin VA. Analiz invalidnosti naseleniya Tul'skoy oblasti [Analysis of disabilities of the population of Tula region]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2012[cited 2013 Feb 21];1[about 15 p.]. Russian. Available from: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2012-1/3717.pdf.

3. Kitanina KY, Khromushin VA, Fedorov SY, Khromushin OV. Formirovanie analiticheskikh massivov dannykh dlya mnogofaktornogo analiza s ispolzovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Formation of analytical data sets for multivariate analysis using algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2015[cited 2015 Sep 07],3[about 12 p.]. Russian. Available from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-3/5219.pdf. DOI: 10.12737/13074.

4. Kitanina KYu, Khromushin VA, Aver'yanova DA. Sovershenstvovanie metodov issledovaniya zdorov'ya naseleniya s ispol'zovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Improving the methods of researching health of the population using an algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2015;22(3):8-14. DOI: 10.12737/13291. Russian.

5. Kitanina KYu. Metodologiya mnogofaktornogo issledovaniya zdorov'ya naseleniya s ispol'zovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Methodology of multivariate study of the health of population using an algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2016;3:14-22. DOI: 10.12737/21743. Russian.

6. Lebedev MV, Aver'yanova DA, Khromushin VA, Lastovetskiy AG. Travmatizm v dorozhnotransportnykh proisshestviyakh: analiticheskie issledovaniya s ispol'zovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Injuries in road accidents: analytical stud-

М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2014. 120 с.

7. Хромушин В.А., Махалкина В.В. Обобщенная оценка результирующей алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. 2009. N3. С. 39–40.

8. Хромушин В.А., Честнова Т.В., Китанина К.Ю., Хромушин О.В. Совершенствование методики обобщенной оценки показателей здравоохранения // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 17, №1. С. 139–140.

9. Хромушин В.А., Честнова Т.В., Китанина К.Ю., Хромушин О.В. Методика работы по обобщенной оценке показателей здравоохранения // XXXXVI научно-практическая конференция профессорско-преподавательского состава ТулГУ "ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ЗДРАВООХРАНЕНИЕ: ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА": Сборник статей. Тула, 2010. С. 135–137.

10. Хромушин В.А., Хромушин О.В., Минаков Е.И. Алгоритм и программа анализа результирующих импликант алгебраической модели конструктивной логики. В сб. статей XXXXVI научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава ТулГУ «Общественное здоровье и здравоохранение: профилактическая и клиническая медицина». Тула, 2010. С.138–148.

11. Хадарцев А.А., Хромушин В.А., Хромушин О.В., Честнова Т.В. Обзор аналитических работ с использованием алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2011. №1. Публикация 3-2. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2011-1/LitObz.pdf

12. Хромушин В.А., Ластовецкий А.Г., Даильнев В.И., Китанина К.Ю., Хромушин О.В. Опыт выполнения аналитических расчетов с использованием алгебраической модели конструктивной логики в медицине и биологии // Вестник новых медицинских технологий. 2013. Т. 20, №4. С. 7–12.

13. Хромушин В.А. Сравнительный анализ алгеб-

ies using algebraic model of constructive logic]. Uchebnoe posobie. Moscow: RIO TsNIIOIZ; 2014. Russian.

7. Khromushin VA, Makhalkina VV. Obobshchennaya otsenka rezul'tiruyushchey algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Generalised estimation of a resulting component of algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2009;16(3):39-40. Russian.

8. Khromushin VA, Chestnova TV, Kitanina KYu, Khromushin OV. Sovershenstvovanie metodiki obobshchennoy otsenki pokazateley zdravookhraneniya [Improving the methodology of generalized estimation of health indicators]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2010;17(1):139-40. Russian.

9. Khromushin VA, Chestnova TV, Kitanina KYu, Khromushin OV. Metodika raboty po obobshchennoy otsenke pokazateley zdravookhraneniya [Working procedure for generalized estimation of health indicators]. XXXXVI nauchno-prakticheskaya konferentsiya professorsko-prepodavatel'skogo sostava TulGU “Obshchestvennoe zdorov'e i zdravookhranenie: profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina”: Sbornik statey. Tula; 2010. Russian.

10. Khromushin VA, Khromushin OV, Minakov EI. Algoritm i programma analiza rezul'tiruyushchikh implikant algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [The algorithm and the program for analyzing the resulting implicants of an algebraic model of constructive logic]. XXXXVI nauchno-prakticheskaya konferentsiya professorsko-prepodavatel'skogo sostava TulGU “Obshchestvennoe zdorov'e i zdravookhranenie: profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina”: Sbornik statey. Tula; 2010. Russian.

11. Khadartsev AA, Khromushin VA, Khromushin OV, Chestnova TV. Obzor analiticheskikh rabot s ispol'zovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Review of analytical work with algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (Elektronnoe izdanie). 2011;1 [about 4 p.]. Russian. Avaliable from: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2011-1/LitObz.pdf

12. Khromushin VA, Lastovetskiy AG, Dail'nev VI, Kitanina KYu, Khromushin OV. Opyt vypolneniya analiticheskikh raschyotov s ispol'zovaniem algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki v meditsine i biologii [Experience of performing analytical calculations using algebraic model of constructive logic in medicine and biology]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2013;20(4):7-12. Russian.

13. Khromushin VA. Sravnitel'nyy analiz alge-

раической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 1-19. URL: http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4500.pdf (дата обращения 12.08.2013).

14. Хромушин О.В. Способ выделения главных результирующих составляющих в алгебраической модели конструктивной логики // Вестник новых медицинских технологий. Электронный журнал. 2012. №1. Публикация 1-2. URL: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2012-1/3966.pdf (дата обращения 15.05.2012).

15. Щеглов В.Н. Алгебраические модели конструктивной логики для управления и оптимизации химико–технологических систем // Автореферат кандидата технических наук. Л.: Технологический институт им. Ленсовета, 1983. 20 с.

16. Щеглов В.Н., Хромушин В.А. Интеллектуальная система на базе алгоритма построения алгебраических моделей конструктивной (интуиционистской) логики // Вестник новых медицинских технологий. 1999. №2. С. 131–132.

17. Щеглов В. Н., Бучель В. Ф., Хромушин В.А. Логические модели структур заболеваний за 1986-1999 годы участников ликвидации аварии на ЧАЭС и/или мужчин, проживающих в пораженной зоне и имеющих злокачественные новообразования органов дыхания // Радиация и риск. 2002. Вып. 13. С. 56–59.

braicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [Comparative analysis of algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2013[cited 2013 Aug 12];1[about 4 p.]. Russian. Available from: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4500.pdf. Russian.

14. Khromushin OV. Sposob vydeleniya glavnykh rezul'tiruyushchikh sostavlyayushchikh v algebraicheskoy modeli konstruktivnoy logiki [A method for identifying the main resulting components of an algebraic model of constructive logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [internet]. 2012 [cited 2012 May 15];1[about 6 p.]. Russian. Avaliable from: http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2012-1/3966.pdf.

15. Shcheglov VN. Algebraicheskie modeli konstruktivnoy logiki dlya upravleniya i optimizatsii khimiko-tekhnologicheskikh sistem [dissertation]. Leningrad (Leningrad region): Tekhnologicheskiy institut im. Lensoveta; 1983. Russian.

16. Shcheglov VN, Khromushin VA. Intellektual'naya sistema na baze algoritma postroeniya algebraicheskikh modeley konstruktivnoy (intuitsionistskoy) logiki [Intelligent system based on the algorithm for constructing algebraic models of constructive (intuitionistic) logic]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 1999;2:131-2. Russian.

17. Shcheglov VN, Buchel' VF, Khromushin VA. Logicheskie modeli struktur zabolevaniy za 1986-1999 gody uchastnikov likvidatsii avarii na ChAES i / ili muzhchin, prozhivayushchikh v porazhennoy zone i imeyushchikh zlokachestvennye novoobrazovaniya organov dykhaniya [Logical models of 1986-1999 patterns of diseases in Chernobyl accident liquidators and / or men living in the affected area and having malignant neoplasms of the respiratory system]. Radiatsiya i risk. 2002; 13: 56-9. Russian.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 237–243
JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 237–243

УДК: 6111.1 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16090

МАТРИЦЫ ПАРНЫХ СРАВНЕНИЙ ВЫБОРОК В ОЦЕНКЕ ХАОТИЧЕСКОЙ ДИНАМИКИ ПАРАМЕТРОВ КАРДИОРИТМА ЖЕНСКОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮГРЫ

О.А. ВЕДЯСОВА[*], И.Ф. ЕРЕГА[**], И.Р. ЕРЕГА[**], Р.Б. ТЕН[**]

[*]ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева», ул. Акад. Павлова, 1, Самара, 443011, Россия
[**]БУ ВО «Сургутский государственный университет» ул. Ленина, 1, Сургут, 628400, Россия,
e-mail: erega666@mail.ru

Аннотация. В работе изучены и рассмотрены параметры сердечно-сосудистой системы женского населения Югры. Выполнено сравнение параметров сердечно-сосудистой системы некоренного населения с позиции методов классической статистики и теории хаоса-самоорганизации. Расчет матриц парных сравнений выборок пришлого женского населения показал увеличение числа произвольных пар выборок кардиоинтервалов, которые (пары) можно отнести к одной генеральной совокупности. Показана практическая возможность применения метода расчета матриц парных сравнений выборок кардиоинтервалов в оценке сердечно-сосудистой системы человека. Установлено, что число пар совпадений выборок кардиоинтервалов k до нагрузки в среднем составляет $<k_1>$=12,13 а после нагрузки $<k_2>$ составляет 12,53. Однако, в любом случае эти числа весьма невелики, т.е. доля стохастики менее 20% и это доказывает эффект Еськова-Зинченко в организации движений. Более того, повторить подряд две одинаковые выборки невозможно для одного испытуемого в неизменном гомеостазе. Вероятность p того, что $f_j(x_i)=f_{j+1}(x_i)$ невелика, p<0,05 и это существенно ограничивает возможности стохастики в описании биосистем.

Ключевые слова: матрицы парных сравнений выборок, эффект Еськова-Зинченко, кардиоинтервалы.

Введение. Воздействие окружающей среды на организм человека на Севере РФ приводит к напряжению основных *функциональных систем организма* (ФСО). При этом индивидуальные особенности организма и его защитные ответные реакции на воздействие экстремальных факторов отражают в первую очередь наследственно-конституциональные особенности как всего организма, так и его различных функциональных систем. Поскольку здоровье населения ХМАО-Югры, в особенности женского пришлого населения, находится под постоянным воздействием особых факторов риска, то это приводит к формированию специфической северной патологии ФСО. В частности, у пришлого старшего (по возрасту) женского населения отмечается напряжение механизмов адаптации к проживанию на Севере [2,3,5-8,10,12-14].

В рамках нового подхода с позиций *теории хаоса-самоорганизации* (ТХС) целесообразно изучение функциональных резервов организма т.к. сейчас доказан *эффект Еськова-Зинченко* (ЭЕЗ) и для сердечно-сосудистой системы человека (как главной ФСО) [1-9]. С помощью новых методов системного анализа и синтеза изучались исходное состояние, выявлялись морфофункциональные особенности организма в условиях покоя и после нагрузочных тестов. Важную роль в приспособлении организма в ответ на воздействие экстремальных факторов Севера РФ играют показатели степени активности и особенности регуляции *сердечно-сосудистой системы* (ССС) со стороны *вегетативной нервной системы* (ВНС).

Наибольшее влияние на изменения параметров сердечно-сосудистой системы в условиях адаптации к жизни на Севере оказывают параметры состояние здоровья и реальная физическая работоспособность обследуемых, которая на Севере РФ остается крайне низкой. Оценка реактивности сердечного ритма (у нас это *кардиоинтервалы* – КИ) в ответ на стандартные нагрузки дает более полную характеристику функционального состояния вегетативной нервной системы человека и ССС в целом [10-17,20-30].

Цель исследования – оценка параметров сердечно-сосудистой системы (кардиоинтервалов) методом матриц парных сравнений выборок в условиях релаксации и дозированной физической нагрузки (как тест).

Объекты и методы исследования. Объектом настоящего исследования явилась группа женщин, средний возраст которых составил <*T*>=25 лет, проживающих на территории округа более 15 лет. Регистрация параметров КИ осуществлялась с помощью пульсоксиметра «Элокс-01» с соответствующим программным обеспечением. Статистическая обработка данных производилась с использованием программы *Statistica* 10 и в рамках ТХС [21-30].

Регистрация кардиоинтервалов проводилась по следующей методике: специальным фотооптическим датчиком в течение 5 мин, регистрировали (в виде файлов с не менее 300 точками – значениями КИ) КИ в удобном сидячем положении. После выполнения стандартизированной динамической нагрузки – 30 приседаний, регистрация КИ продолжалась тоже в течение 5 минут. В итоге, при помощи программы «*ELOGRAPH*» в режиме реального времени изучали влияния динамической нагрузки на параметры сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем с одновременным построением гистограммы распределения длительности КИ. По полученным 15 выборкам КИ (в каждой по 300 точек) строились матрицы парных сравнений выборок КИ, использовался критерий Вилкоксона для каждой пары сравнения. В этих матрицах находилось *k* – число пар КИ, которые можно отнести к одной генеральной совокупности, что составляет основу ТХС [17-30] с позиций эффекта Еськова-Зинченко [1-9].

Таблица 1

Матрица парного сравнения 15-ти выборок параметров КИ испытуемой ЕИР в удобном сидячем положении при повторных экспериментах (k_1=11) с помощью непараметрического критерия Вилкоксона, p≥0,05

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00		0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,01		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00		0,73	0,79	0,02	0,02	0,34	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,73**		0,52	0,00	0,01	0,45	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,79**	**0,52**		0,00	0,00	0,67	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00		0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	**0,11**		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,34**	**0,45**	**0,67**	0,00	0,00		0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
11	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,07**	0,02	**0,32**	0,00	0,00	**0,05**		0,00	0,00	0,00	0,00
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,01	0,00
14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01		0,06
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,06**	

Примечание: *p* – достигнутый уровень значимости (критическим уровнем принят *p*<0,05)

Таблица 2

Матрица парного сравнения 15-ти выборок параметров КИ испытуемой ЕИР после физической нагрузки (при повторных экспериментах (k_2=14), с помощью непараметрического критерия Вилкоксона p≥0,05

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00		0,03	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,69	0,91	0,00	0,00	0,01	0,00
3	0,00	0,03		0,09	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,09	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	**0,09**		0,00	0,00	0,00	0,95	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,29	0,69	0,00
8	0,00	0,00	**0,26**	**0,95**	0,00	0,00	0,00		0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,05**	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
10	0,00	**0,69**	**0,09**	0,02	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00		0,19	0,00	0,01	0,03	0,00
11	0,00	**0,91**	**0,25**	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	**0,19**		0,00	0,00	0,00	0,00
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00
13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,29**	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00		0,41	0,00
14	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	**0,69**	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	**0,41**		0,00
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Примечание: *p* – достигнутый уровень значимости (критическим уровнем принят *p*<0,05)

Результаты и их обсуждение. Для всех испытуемых было получено по 225 выборок КИ в условиях релаксации и аналогично 225 после приседаний (15 серий по 15 выборок) в каждой выборке из всех 15-ти. Были построены матрицы парных сравнений параметров кардиоинтервалов для 15-ти серий повторов выборок кардиоинтервалов без нагрузки (релаксация) и столько же при нагрузке (в виде 30-ти приседаний). В табл. 1 и 2 представлены характерные примеры матриц парного сравнения кардиоинтервалов испытуемой – ЕИР, как типового при 2-х положениях: в комфортном сидячем поло-

жении (табл. 1) и после нагрузки в 30 приседаний (табл. 2).

Для испытуемой ЕИР, число пар совпадений k параметров кардиоинтервалов при нагрузке увеличилось (против исходного k_1=11) до k_2=14 (табл. 1 и 2). До нагрузки испытуемого число совпадений k выборок КИ было существенно ниже ($k_1<k_2$). Поскольку для многих параметров гомеостаза функции распределения $f(x)$ не могут показывать устойчивость ($f(x)$ непрерывно изменяются), то возникает вопрос о целесообразности использования функций распределения $f(x)$ для кардиоинтервалов. Наблюдается их непрерывное изменение при сравнении выборок КИ, и любая выборка КИ имеет свой особый закон статистического распределения $f(x)$ для каждого интервала Δt [14-21,25-30].

Характерно, что для этих же результатов в рамках стохастики мы не можем получить достоверных различий. В этом случае 15 выборок КИ до нагрузки и 15 выборок КИ после 30-ти приседаний не показывают достоверных статистических различий (при парном сравнении выборок КИ до и после нагрузки). Это представлено в табл. 3. При этом числа k_1 и k_2 различаются существенно для каждого отдельного испытуемого. Объединения их в группы нивелирует реальное различие каждого испытуемого. Возникает проблема для персонифицированной медицины.

Таблица 3

Число пар совпадений выборок (k) для всех 15-ти матриц парного сравнения КИ испытуемой ЕИР до и после физической нагрузки

N серии		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	$X_{ср}$ k	Max k	Min k
k_1 до нагрузки	k_1 в серии	15	9	10	5	19	10	10	11	16	8	16	20	10	6	17	12,13	**20**	**6**
k_2 после нагрузки	k_2 в серии	8	17	12	6	17	8	14	36	8	19	4	5	11	12	11	12,53	**36**	**4**

В табл. 3 представлены результаты статистической обработки парных сравнений (всех 15-ти выборок КИ) выборок КИ у этой же испытуемой – ЕИР при комфортном сидячем положении и после физической нагрузки в 30 приседаний при повторных сериях экспериментов. В целом, средние значения показателей <k> увеличиваются при физической нагрузке (F_2), что доказывает статистическую неустойчивость кардиоинтервалов в целом и может говорить об ответной реакции ССС (в ответ на физическую нагрузку) у молодых женщин Югры по параметрам матриц парных сравнений выборок.

Оказалось, что в первом случае (без нагрузки) все матрицы 15×15 (105 разных пар сравнений) показывают среднее значение <k_1>=12,13. После физической нагрузки наблюдается увеличение числа совпадений пар k параметров КИ до среднего значения <k_2>=12,53, т.е. доля стохастики незначительно увеличивается. Это доказывает глобальность эффекта Еськова-Зинченко, в котором наблюдается хаотический калейдоскоп статистических функций $f(x)$ для одного гомеостаза у одной испытуемой (в неизменном состоянии). Отметим, что эффект Еськова-Зинченко был установлено в биомеханике, а сейчас мы его распространяем на ССС, т.к. для стохастики (в любом случае) весьма мала (меньше 13%).

Заключение. Методы математической статистики не являются эффективным аппаратом для сравнения КИ. Расчет числа совпадений выборок КИ в матрицах парного сравнения (15×15) у испытуемых (в сочетании с традиционными детерминистско-стохастическими методами) обеспечивают получение объективной информации о функциональном состоянии и степени адекватности реакций организма на физическую нагрузку. Установлено, что при физической нагрузке изменяются (но статистически недостоверно) значения чисел совпадений (k) параметров КИ. Это позволяет объективно оценивать динамику резервных возможностей организма и их прогностическую значимость, а также оценивать степень тренированности (или нетренированности) испытуемых [10,12-16,22-30]. В любом случае мы регистрируем эффект Еськова-Зинченко. Это доказывает статистическую неустойчивость выборок КИ при повторных измерениях у одного человека в неизменном гомеостазе. В любом случае (с нагрузкой и без таковой) доля стохастики невелика (менее 15% в общем случае, для всех обследуемых).

PAIR WISE COMPARISON MATRICES OF SAMPLES IN ASESSMENT OF CHAOTIC DYNAMICS OF HEART RATE OF UGRA MALE POPULATION

O.A. VEDYASOVA[*], I.F. EREGA[**], I.R. EREGA[**], R.B. TEN[**]

[*]*Samara National Research University named after academician S.P. Korolev (Samara University), acad. Pavlov Str, 1, Samara, 443011, Russia*
[**]*Surgut State University, Lenin pr., 1, Surgut, 628400, Russia, e-mail: erega666@mail.ru*

Abstract. The paper presents the behavior of human cardio-vascular parameters (woman – citizens of Ugra). It was demonstrated the comparison of such parameters according to classic stochastics and new theory of chaos-self-organization. The calculation of samples comparison matrix for arrival woman demonstrate the increase of such pare (which we can present as one general distribution). The method of such pair comparison (as matrix) can be use always for cardio-vascular systems research. It was demonstrated that before physical training $<k_1>=12.13$ and after such training $<k_2>=12.53$. It is evident that numbers k is very little, so the part of stochastics is very little and it illustrated the reality of the Eskov-Zinchenko effect in moving organization. It is impossible to get the same tow samples of tremor. It is very strong restriction of stochastic possibility in biosystems descriptions.

Key words: matrix of samples of pair comparison, the Eskov-Zinchenko effect, cardiointervals.

Литература

1. Галкин В.А., Попов Ю.М., Берестин Д.К., Монастырецкая О.А. Статика и кинематика гомеостатических систем - complexity // Сложность. Разум. Постнеклассика. 2017. № 2. С. 63–69. DOI: 10.12737/article_594ceea666de95.92572257

2. Денисова Л.А., Прохоров С.А., Шакирова Л.С., Филатова Д.Ю. Хаос параметров сердечно-сосудистой системы школьников в условиях широтных перемещений // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, № 1. С. 133–142. DOI:10.24411/1609-2163-2018-15989.

3. Еськов В.В. Математическое моделирование гомеостаза и эволюции complexity: монография. Тула: изд-во ТулГУ, 2016. 372 с.

4. Еськов В.В. Математическое моделирование неэргодичных гомеостатических систем // Вестник новых медицинских технологий. 2017. Т. 24, № 3. С. 33–39.
DOI: 10.12737/article_59c49db14e5153. 41167665

5. Еськов В.М., Галкин В.А., Филатова О.Е. Complexity: хаос гомеостатических систем: монография / Под ред. Г.С. Розенберга. Самара: изд-во ООО «Порто-принт», 2017. 388 с.

References

1. Galkin VA, Popov YuM, Berestin DK, Monastyretskaya OA. Statika i kinematika gomeostaticheskikh sistem – complexity [Statics and kinematics of homeostatic systems - complexity]. Slozhnost'. Razum. Postneklassika. 2017;2:63-9. DOI: 10.12737/article_594ceea666de95.92572257. Russian.

2. Denisova LA, Prohorov SA, SHakirova LS, Filatova DYU. Haos parametrov serdechno-sosudistoj sistemy shkol'nikov v usloviyah shirotnyh peremeshchenij [Chaos of parameters of cardiovascular system of schoolchildren in conditions of latitudinal movements]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2018;25(1):133-42. Russian. DOI:10.24411/1609-2163-2018-15989.

3. Es'kov VV. Matematicheskoe modelirova-nie gomeostaza i ehvolyucii complexity: mo-nografiya [Mathematical modelling of homeos-tasis and the evolution of complexity: the mo-nograph]. Tula: izd-vo TulGU; 2016. Russian.

4. Es'kov VV. Matematicheskoe modelirovanie neehrgodichnyh gomeostaticheskih sistem [Mathematical modeling of nonergodic homeostatic systems]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2017;24(3):33-9.
DOI: 10.12737/article_59c49db14e5153. 41167665. Russian.

5. Es'kov VM, Galkin VA, Filatova OE. Complexity: khaos gomeostaticheskikh sistem: monografiya [Complexity: chaos of homeostatic systems: monograph]. Pod red. G.S. Rozenberga. Samara: izd-vo OOO «Potro-print»; 2017. Russian.

6. Еськов В.М., Галкин В.А., Филатова О.Е. Конец определенности: хаос гомеостатических систем. Тула, 2017. 596 с.

6. Es'kov VM, Galkin VA, Filatova OE. Konets opredelennosti: khaos gomeostaticheskikh sistem [End of certainty: chaos of homeostatic systems]. Tula; 2017. Russian.

7. Еськов В.М., Зинченко Ю.П., Филатова О.Е. Естествознание: от стохастики к хаосу и самоорганизации // Вестник кибернетики. 2017. № 1 (25). С. 121–127.

7. Es'kov VM, Zinchenko YUP, Filatova OE. Estestvoznanie: ot stokhastiki k khaosu i sa-moorganizacii [Natural science: from stochastics to chaos and self-organization]. Vestnik kibernetiki. 2017;1(25):121-7. Russian.

8. Еськов В.М., Зинченко Ю.П., Филатова О.Е. Признаки парадигмы и обоснование третьей парадигмы в психологии // Вестник московского университета. Серия 14: Психология. 2017. №. 1. С. 3–17.

8. Es'kov VM, Zinchenko YuP, Filatova OE. Priznaki paradigmy i obosnovanie tret'ey paradigmy v psikhologii [Signs of the paradigm and the rationale for the third paradigm in psychology]. Vestnik moskovskogo universiteta. Seriya 14: Psikhologiya. 2017;1:3-17. Russian.

9. Еськов В.М., Филатова О.Е., Полухин В.В. Проблема выбора абстракций при применении биофизики в медицине // Вестник новых медицинских технологий. 2017. №1. С. 158–167. DOI: 12737/25253.

9. Es'kov VM, Filatova OE, Poluhin VV. Problema vybora abstrakcij pri primenenii biofiziki v medicine [The problem of choice of abstractions in the application of Biophysics in medicine]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2017;1:158-67. DOI: 12737/25253. Russian.

10. Еськов В.М., Филатова О.Е., Иляшенко Л.К. Биофизика живых систем в зеркале теории хаоса-самоорганизации // Вестник новых медицинских технологий. 2017. №4. С. 20–26. DOI: 10.12737/article_5a38f0267f9733.52971633.

10. Es'kov VM, Filatova OE, Ilyashenko LK. Biofizika zhivyh sistem v zerkale teorii haosa-samoorganizacii [Biophysics of living systems in the mirror of chaos-self-organization theory]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2017;4:20-6. DOI: 10.12737/article_5a38f0267f9733.52971633. Russian.

11. Зилов В.Г., Хадарцев А.А., Еськов В.В., Еськов В.М. Экспериментальные исследования статистической устойчивости выборок кардиоинтервалов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 164, № 8. С. 136–139.

11. Zilov VG, Khadartsev AA, Es'kov VV, Es'kov VM. Eksperimental'nye issledovaniya statisticheskoy ustoychivosti vyborok kardiointervalov [Experimental studies of the statistical stability of samples of cardiointervals]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2017;164(8):136-9. Russian.

12. Зилов В.Г., Хадарцев А.А., Иляшенко Л.К., Еськов В.В., Миненко И.А. Экспериментальные исследования хаотической динамики биопотенциалов мышц при различных статических нагрузках // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165, № 4. С. 400–403.

12. Zilov VG, Hadarcev AA, Ilyashenko LK, Es'kov VV, Minenko IA. EHksperimental'nye issledovaniya haoticheskoj dinamiki biopotencialov myshc pri razlichnyh staticheskih nagruzkah [Experimental studies of chaotic dynamics of muscle biopotentials under various static loads]. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny. 2018;165(4):400-3. Russian.

13. Мирошниченко И.В., Прохоров С.В., Эльман К.А., Срыбник М.А. Сравнительный анализ хаотической динамики показателей сердечно-сосудистой системы пришлого детско-юношеского населения Югры // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, № 1. С. 154–160. DOI:10.24411/ 1609-2163-2018-15997.

13. Miroshnichenko IV, Prohorov SV, EHl'man KA, Srybnik MA. Sravnitel'nyj analiz haoticheskoj dinamiki pokazatelej serdechno-sosudistoj sistemy prishlogo detsko-yunosheskogo naseleniya YUgry [Comparative analysis of chaotic dynamics of indicators of cardiovascular system of alien children and youth population of Ugra]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2018;25(1):154-60. DOI:10.24411/ 1609-2163-2018-15997. Russian.

14. Пятин В.Ф., Еськов В.В., Алиев Н.Ш., Воробьева Л.А. Хаос параметров гомеостаза функциональных систем организма человека // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, № 1. С. 143–153. DOI: 10.24411/1609-2163-2018-15990.

15. Филатова Д.Ю., Эльман К.А., Срыбник М.А., Глазова О.А. Сравнительный анализ хаотической динамики параметров кардио-респираторной системы детско-юношеского населения Югры // Сложность. Разум. Постнеклассика. 2017. № 1. С. 12–18. DOI: 10.12737/article_58ef6be3584c66.67747150.

16. Betelin V.B., Eskov V.M., Galkin V.A., Gavrilenko T.V. Stochastic volatility in the dynamics of complex homeostatic systems // Doklady Mathematics. 2017. Vol. 95, No. 1. P. 92–94. DOI: 10.1134/ S10645 62417010240.

17. Eskov V.M. Cyclic respiratory neuron network with subcycles // Neural Network World. 1994. Vol. 4, No 4. P. 403–416.

18. Eskov V.M. Hierarchical respiratory neuron // Modelling, Measurement and Control C. 1995. Vol. 48 (1-2). P. 47–63.

19. Eskov V.M., Bazhenova A.E., Vochmina U.V., Filatov M.A., Ilyashenko L.K. N.A. Bernstein hypothesis in the Description of chaotic dynamics of involuntary movements of person // Russian Journal of Biomechanics. 2017. Vol. 21, No. 1. P. 14–23.

20. Eskov V.M., Eskov V.V., Vochmina Y.V., Gorbunov D.V., Ilyashenko L.K. Shannon entropy in the research on stationary regimes and the evolution of complexity // Moscow University Physics Bulletin. 2017. Vol. 72, No. 3. P. 309–317.

21. Eskov V.M., Filatova O.E., Eskov V.V., Gavrilenko T.V. The Evolution of the Idea of Homeostasis: Determinism, Stochasticsand Chaos-Self-Organization // Biophysics. 2017. Vol. 62, No. 5. P. 809–820.

22. Eskov V.M., Gudkov A.B., Bazhenova A.E., Kozupitsa G.S. The tremor parameters of female with different physical training in the Russian North // Human Ecology. 2017. No. 3. P. 38–42.

23. Eskov V.V., Filatova O.E., Gavrilenko T.V., Gorbunov D.V. Chaotic Dynamics of Neuromuscular System Parameters and the Problems of the Evolution of Complexity // Biophysics. 2017. Vol. 62, No. 6. P. 961–966.

14. Pyatin VF, Es'kov VV, Aliev NSH, Vorob'eva LA. Haos parametrov gomeostaza funkcional'nyh sistem organizma cheloveka [Chaos of homeostasis parameters of functional systems of human body]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2018;25(1):143-53. DOI: 10.24411/1609-2163-2018-15990. Russian.

15. Filatova DYu, El'man KA, Srybnik MA, Glazova OA. Sravnitel'nyy analiz khaoticheskoy dinamiki parametrov kardio-respiratornoy sistemy detsko-yunosheskogo naseleniya Yugry [Comparative analysis of the chaotic dynamics of the parameters of the cardio-respiratory system of the children and youth population of Yugra]. Slozhnost'. Razum. Postneklassika. 2017;1:12-8. DOI: 10.12737/article_58ef6be3584c66.67747150. Russian.

16. Betelin VB, Eskov VM, Galkin VA, Gavrilenko TV. Stochastic volatility in the dynamics of complex homeostatic systems. Doklady Mathematics. 2017;95(1):92-4. DOI: 10.1134/ S10645 62417010240.

17. Eskov VM. Cyclic respiratory neuron network with subcycles. Neural Network World. 1994;4(4):403-16.

18. Eskov VM. Hierarchical respiratory neuron. Modelling, Measurement and Control C. 1995;48(1-2):47-63.

19. Eskov VM, Bazhenova AE, Vochmina UV, Filatov MA, Ilyashenko LK. N.A. Bernstein hypothesis in the Description of chaotic dynamics of involuntary movements of person. Russian Journal of Biomechanics. 2017;21(1):14-23.

20. Eskov VM, Eskov VV, Vochmina YV, Gorbunov DV, Ilyashenko LK. Shannon entropy in the research on stationary regimes and the evolution of complexity. Moscow University Physics Bulletin. 2017;72(3):309-17.

21. Eskov VM, Filatova OE, Eskov VV, Gavrilenko TV. The Evolution of the Idea of Homeostasis: Determinism, Stochasticsand Chaos-Self-Organization. Biophysics. 2017;62(5):809-20.

22. Eskov VM, Gudkov AB, Bazhenova AE, Kozupitsa GS. The tremor parameters of female with different physical training in the Russian North. Human Ecology. 2017;3:38-42.

23. Eskov VV, Filatova OE, Gavrilenko TV, Gorbunov DV. Chaotic Dynamics of Neuromuscular System Parameters and the Problems of the Evolution of Complexity. Biophysics. 2017;62(6):961-6.

24. Eskov V.V., Gavrilenko T.V., Eskov V.M., Vochmina Yu.V. Static Instability Phenomenon in Type-Three Secretion Systems: Complexity // Technical Physics. 2017. Vol. 62, No. 11. P. 1611–1616.

25. Filatova D.U., Veraksa A.N., Berestin D.K., Streltsova T.V. Stochastic and chaotic assessment of human's neuromuscular system in conditions of cold exposure // Human Ecology. 2017. No. 8. P. 15–20.

26. Filatova O.E., Bazhenova A.E., Ilyashenko L.K., Grigorieva S.V. Estimation of the Parameters for Tremograms According to the Eskov-Zinchenko Effect Biophysics // Biophysics. 2018. Vol. 63, No. 2. P. 125–130.

27. Filatova O.E., Eskov V.V., Filatov M.A., Ilyashenko L.K. Statistical instability phenomenon and evaluation of voluntary and involuntary movements // Russian Journal of Biomechanics. 2017. Vol. 21, No. 3. P. 224–232.

28. Garaeva G.R., Eskov V.M., Eskov V.V., Gudkov A.B., Filatova O.E., Khimikova O.I. Chaotic dynamics of cardiointervals in three age groups of indigenous people of Ugra // Human Ecology (Russian Federation). 2015. No. 9. P. 50–55.

29. Zilov V.G., Eskov V.M., Khadartsev A.A., Eskov V.V. Experimental confirmation of the effect of "Repetition without repetition" N.A. Bernstein // Bulletin of experimental biology and medicine. 2017. Vol. 1. P. 4–8.

30. Zilov V.G., Khadartsev A.A., Eskov V.V., Eskov V.M. Experimental Study of Statistical Stability of Cardiointerval Samples // Bulletin of experimental biology and medicine. 2017. Vol. 164, No. 2. P. 115–117.

24. Eskov VV, Gavrilenko TV, Eskov VM, Vochmina YuV. Static Instability Phenomenon in Type-Three Secretion Systems: Complexity. Technical Physics. 2017;62(11):1611-6.

25. Filatova DU, Veraksa AN, Berestin DK, Streltsova TV. Stochastic and chaotic assessment of human's neuromuscular system in conditions of cold exposure. Human Ecology. 2017;8:15-20.

26. Filatova OE, Bazhenova AE, Ilyashenko LK, Grigorieva SV. Estimation of the Parameters for Tremograms According to the Eskov-Zinchenko Effect Biophysics. Biophysics. 2018;63(2):125-30.

27. Filatova OE, Eskov VV, Filatov MA, Ilyashenko LK. Statistical instability phenomenon and evaluation of voluntary and involuntary movements. Russian Journal of Biomechanics. 2017;21(3):224-32.

28. Garaeva GR, Eskov VM, Eskov VV, Gudkov AB, Filatova OE, Khimikova OI. Chaotic dynamics of cardiointervals in three age groups of indigenous people of Ugra. Human Ecology (Russian Federation). 2015;9:50-5.

29. Zilov VG, Eskov VM, Khadartsev AA, Eskov VV. Experimental confirmation of the effect of "Repetition without repetition" N.A. Bernstein. Bulletin of experimental biology and medicine. 2017;1:4-8.

30. Zilov VG, Khadartsev AA, Eskov VV, Eskov VM. Experimental Study of Statistical Stability of Cardiointerval Samples. Bulletin of experimental biology and medicine. 2017;164(2):115-7.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 244–249

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 244–249

УДК: 577.175.722 DOI: 10.24411/1609-2163-2018-16212

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА КРАТКОСРОЧНОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ АППАРАТА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ

П.А. РУДЕНКО

Национальный исследовательский университет «МИЭТ», пл. Шокина, 1, Зеленоград, Москва, 124498, Россия

Аннотация. Разработан алгоритм краткосрочного прогнозирования концентрации глюкозы в крови, основанный на математической модели динамики глюкозы в крови пациента. В качестве математической модели используется кусочная аппроксимация динамики концентрации глюкозы в крови участками логистической функции. Алгоритм осуществляет сравнение расчётных и измеренных значений величин концентрации глюкозы в крови и на основе результатов сравнения вырабатывает необходимые выходные сигналы. Алгоритм позволяет осуществлять прогнозирование уровня глюкозы, информировать пользователя об аварийных ситуациях, осуществлять расчёт дозы вводимого инсулина, детектировать некорректный ввод информации. Проведена апробация алгоритма с использованием предварительно подготовленных наборов входных данных, отражающих параметры пациентов. В ходе апробации было установлено, что выбранная концепция алгоритма позволяет решать весь набор задач, поставленных перед алгоритмом. По результатам апробации можно заключить, что применение предлагаемого алгоритма в составе аппарата автоматизированной инсулинотерапии является перспективным.

Ключевые слова: математическая модель, прогнозирование, аппарат автоматизированной инсулинотерапии, концентрация глюкозы в крови.

Введение. По данным ВОЗ [2], число людей, больных сахарным диабетом, возросло со 108 миллионов в 1980 году до 422 миллионов в 2014 году. Также по оценкам данной организации, в 2012 году около 2,2 миллиона смертей были вызваны этим заболеванием, а к 2030 году диабет будет занимать седьмое место среди причин смертности [2].

Основным методом компенсации *сахарного диабета 1 типа* (СД1) является инсулинотерапия – введение экзогенного инсулина в сочетании с соблюдением диеты и режима физической активности. Существенного повышения эффективности процедуры инсулинотерапии можно добиться с использованием замкнутой автоматизированной системы управления «инсулиновый насос – глюкометр». Для повышения качества жизни пациента процедура измерения глюкозы в крови может быть неинвазивной, что существенно повышает удобство использования пациентом данной системы – *аппарата автоматизированной инсулинотерапии* (ААИ).

Цель исследования – разработка алгоритма краткосрочного прогнозирования концентрации глюкозы в крови. Данный алгоритм является важным компонентом ААИ и осуществляет формирование замкнутого контура управления в системе «инсулиновый насос – глюкометр».

Описание аппарата автоматизированной инсулинотерапии. Один из распространённых подходов к проектированию замкнутых систем управления для построения ААИ – это использование *пропорционально-интегрально-дифференцирующего* (ПИД) регулятора. Из теории автоматического управления известно многое о функционировании подобных регуляторов, а также накоплен богатый опыт в вычислении коэффициентов регулирования. Недостатком данного подхода является малая эффективность при регулировании инерционных процессов. Время действия инсулина составляет от нескольких часов до суток, а время усвоения глюкозы организмом составляет десятки минут. Таким образом, необходимо прогнозировать будущие значения *концентрации глюкозы в крови* (КГК) для того, чтобы корректно вычислять необходимые дозы вводимого инсулина.

Данные задачи решает подход, основанный на модели регулирования КГК в организме пациента. Используется модель регуляции глюкозы в крови пациента, на её основе делается прогноз о КГК на ближайшее время и с учётом этого рассчитывается доза необходимого инсулина. По результатам сравнительных исследований при компенсации СД1 ПИД-

регулирование уступает по эффективности регулированию, основанному на модели динамики КГК в организме человека [4,5]. Таким образом, построение аппарата автоматизированной инсулинотерапии необходимо осуществлять с применением данного подхода.

Концепция построения ААИ подразумевает совместное использование нескольких узлов: насоса инсулина, измерителя глюкозы и смартфона со специализированным приложением. В ходе использования аппарата пользователь при помощи графического интерфейса вводит данные о принятой пище, а также о введённом инсулине, если введение осуществляется извне системы (например, с использованием шприц-ручки). Структура ААИ представлена на рис. 1.

Рис. 1. Обобщённая структура аппарата автоматизированной инсулинотерапии

Описание математической модели. В основе описания динамики КГК в организме человека лежит математическая модель, основанная на аппроксимации изменения уровня КГК участками логистической функции [1]. Основные влияющие факторы в рамках рассматриваемой модели приводят либо к росту КГК (приём пищи), либо к его спаду (введение инсулина, остаточная секреция инсулина пациента). Общая запись математического выражения имеет вид $G(t) = G_0 + G_{food} + G_{ins} + \delta G_r + \delta G_b$, где G_0 – начальный уровень КГК пациента, G_{food} – изменение уровня КГК вследствие приёма пищи, $G_{ins}, G_r, \delta G_b$ – изменение уровня КГК вследствие действия болюсного инсулина, остаточного инсулина пациента и базального инсулина соответственно.

Предлагаемая математическая модель учитывает только основные факторы, оказывающие влияние на величину КГК. Изменения КГК, вызванные иными факторами, учитываются при помощи обратной связи по показаниям глюкометра.

Описание алгоритма краткосрочного прогнозирования. Благодаря алгоритму краткосрочного прогнозирования, основанному на математической модели регуляции КГК в организме человека, данные, поступающие в систему, обрабатываются, и вырабатывается решение о требуемой дозе инсулина, выдаче предупреждений пользователю и корректировке параметров модели. Можно выделить задачи, которые должны решаться данным алгоритмом:

– построение прогнозов концентрации глюкозы в крови;

– расчёт требуемой болюсной дозы инсулина;

– оповещение о неисправностях инфузионной системы или измерителя глюкозы;

– выявление случаев некорректного ввода информации пользователем;

– детектирование потенциально опасных ситуаций для пациента (гипо- и гипергликемические уровни КГК);

– корректировка математической модели регуляции КГК;

– выявление ошибочных значений измеренного уровня глюкозы в крови;

– детектирование необходимости провести калибровку глюкометра.

Перечень решаемых задач напрямую связан с особенностями функционирования ААИ. Пациенту важно оценивать динамику КГК, для чего необходимо прогнозировать значения наперёд в течение некоторого интервала времени. Построение прогноза помогает пациенту оценить, насколько корректно происходит процедура инсулинотерапии, и в случае опасных прогнозов обратиться к врачу.

Во время принятия пищи аппарат должен уведомить пациента о том, что употреблённый объём углеводов должен быть скомпенсирован болюсной дозой инсулина для того, чтобы значение КГК осталось в пределах физиологической нормы.

Применение инсулинового насоса в составе аппарата сопряжено с риском повреждения магистрали (пережатие, обрыв, зацеп) – данные ситуации также являются критически важными и должны быть своевременно обнаружены.

Необходимо учитывать и человеческий фактор: могут возникнуть ситуации, при которых пациент забывает ввести показания или данные являются неточными: к примеру, углеводный состав съеденной пищи чаще всего можно определить с определённой долей ошибки. Важным является и тот факт, что приближение уровня КГК к критическим значениям должно обнаруживаться гарантированно

независимо от причин, приведших к этому. В этом случае оповещение пользователя является критической жизненно важной функцией алгоритма краткосрочного прогнозирования.

При функционировании аппарата в моменты принятия решения в качестве исходных информационных потоков используются данные с измерителя глюкозы в крови и расчётные величины, полученные с использованием математической модели. Модель опирается на ряд основных факторов, не учитывая второстепенные явления, что приводит к некоторому отличию реальной КГК от расчётной. При этом если значение, полученное путём непосредственного измерения, отличается от расчётного менее чем на некоторое пороговое значение, то оно считается истинным, и в модель вносится аддитивная составляющая.

Широко распространённые в настоящее время измерители глюкозы являются инвазивными и обладают погрешностью порядка 10-20%. Инвазивный способ неудобен для пациента, поскольку связан с болезненными процедурами забора крови, которые необходимо выполнять при каждом измерении. Неинвазивные методы на данный момент реализованы в ряде экспериментальных образцов глюкометров, их погрешность составляет 25-50%. Для того, чтобы процедура прогнозирования могла быть выполнена в рамках систем с обоими типами измерителей глюкозы, необходимо обеспечение адаптации алгоритма под данные неинвазивного глюкометра: измерение может быть классифицировано как неточное, при этом должно быть отброшено и запрошено новое измерение у соответствующего измерителя (через собственный информационный канал или через графическое сообщение пользователю).

Концепция функционирования алгоритма основана на сравнении данных, полученных с внешнего измерителя глюкозы, и результатов математического моделирования динамики КГК. На основе этих данных алгоритмом вырабатываются выходные сигналы, а также осуществляется прогнозирование уровня КГК.

В начальный момент функционирования алгоритма определяется начальная точка прогноза КГК. Начальным моментом называется время, когда пациент включил аппарат инсулинотерапии или провёл его калибровку. В этот же момент строится прогноз согласно математической модели на ближайшее время. Если пользователь далее вводит информацию о принятой пище или о введённом инсулине, либо данная информация поступает с инсулинового насоса в составе ААИ, осуществляется прогон математической модели, что приводит к пересчёту прогноза. Также прогон модели выполняется после того, как с момента предыдущего прогнозирования прошло время, на которое был рассчитан прогноз. Таким образом, сигналом к пересчёту прогноза являются следующие события: начало работы алгоритма, его калибровка, введение пользователем данных о принятой пище, получение данных от пользователя или инсулинового насоса о введённом инсулине.

Вокруг прогнозируемого значения выстраивается несколько уровней: большой и малый интервалы значений КГК. Данные диапазоны используются для классификации измеренных значений по следующим категориям: достоверные, средней достоверности и недостоверные. Величина этих интервалов изменяется с течением времени: чем больше прошло времени с момента калибровки, тем шире становятся данные интервалы. На рис. 2 приведена иллюстрация построения данных интервалов вокруг прогнозируемого значения.

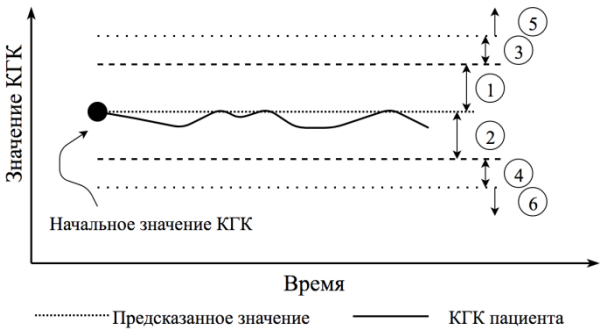


Рис. 2. Иллюстрация построения интервалов для проведения классификации

Важным аспектом функционирования алгоритма является получение данных об уровне глюкозы в крови пациента с использованием глюкометра. При измерении происходит анализ полученного значения относительно построенного прогноза. Для этой цели используются полученные интервалы значений. По факту попадания измеренного значения в один из интервалов осуществляется принятие решения о классификации данного измерения. В табл. приведена классификация измерений в зависимости от попадания в интервал.

Таблица

Классификация измеренных значений КГК

Интервал	Классификация	Действие алгоритма
1, 2	Небольшое отклонение, измерение достоверно	Сдвиг прогнозируемого значения к измеренной величине
3	Большое положительное отклонение	Режим уточнения данных, возможен некорректный ввод данных о принятой пище
4	Большое отрицательное отклонение	Режим уточнения данных, возможен некорректный ввод данных об инсулине
5, 6	Недостоверное измерение	Ошибка глюкометра

Введение диапазонов для классификации измеренных значений позволяет выявлять следующие ситуации: некорректное введение информации пользователем, сбой измерителя глюкозы и сбой инфузионной системы. Существует также ряд неисправностей, которые могут быть детектированы в ходе самодиагностики устройств как отдельных элементов. К таким сбоям можно отнести неисправности инсулинового насоса (пережатие магистрали или её обрыв – оба данных сбоя приведут к отклонениям вольтамперной характеристики мотора от характеристики, полученной с неповреждённой магистралью). Обнаруженные ошибки передаются алгоритму прогнозирования, в задачи которого входит, в том числе, и оповещение пользователя о сбоях.

При обнаружении алгоритмом приёма пищи происходит расчёт дозы инсулина, которая должна скомпенсировать поступивший объём углеводов и сохранить значение КГК в рамках требуемого диапазона. Данные вычисления осуществляются также на основе математической модели регуляции КГК. По итогам расчётов вырабатывается сообщение пользователю с предложением подтвердить введение данной дозы или скорректировать её.

Проведение апробации алгоритма краткосрочного прогнозирования. Для проведения апробации алгоритма краткосрочного прогнозирования была выполнена его реализация в программной среде *Matlab*. В качестве входных воздействий были выбраны данные, являющимися входными информационными потоками для алгоритма в его окончательной реализации в составе ААИ – это трек КГК пациента и информация о принятой пище и введённом инсулине. Эти наборы данных были получены в ходе подготовительных работ [3]. Каждый из наборов данных представляет собой образ пациента, являясь «виртуальным пациентом» в ходе проведения компьютерной апробации алгоритма краткосрочного прогнозирования.

Тестирование проводилось в несколько этапов: наборы входных данных искажались по каждую из решаемых задач. Таким образом, были проведены следующие группы тестов: построение прогноза, определение ошибочных измерений, определение гипер- и гипогликемии, некорректный ввод данных от пациента, расчёт болюсной дозы инсулина. На рис. 3-5 приведены результаты, полученные при апробации алгоритма краткосрочного прогнозирования в рамках различных сценариев.

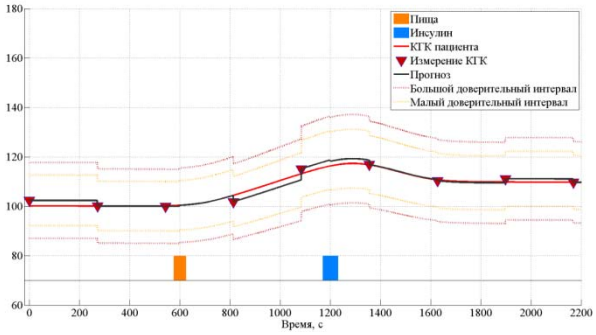


Рис. 3. Пример построения прогноза

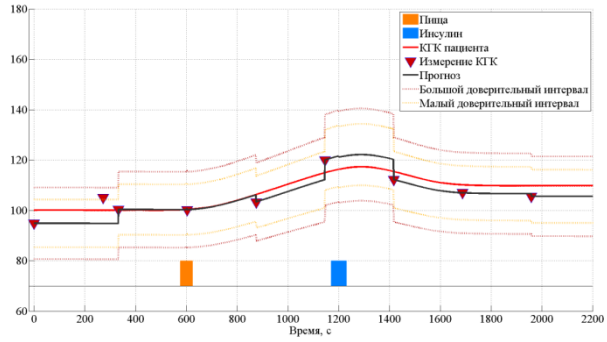


Рис. 4. Пример повторного измерения КГК при попадании измеренного значения в интервал №3 между 200 и 400 с (режим уточнения показаний)

В ходе тестирования были использованы данные 8 виртуальных пациентов. Было установлено, что алгоритм краткосрочного прогнозирования позволяет получать прогноз КГК пациента, с относительным отклонением менее 10%. Также было установлено, что алгоритм осуществляет детектирование некорректного ввода информации пользователем, выработку предупреждений и инициацию повторных из-

мерений КГК в случае их попадания в соответствующие интервалы значений.

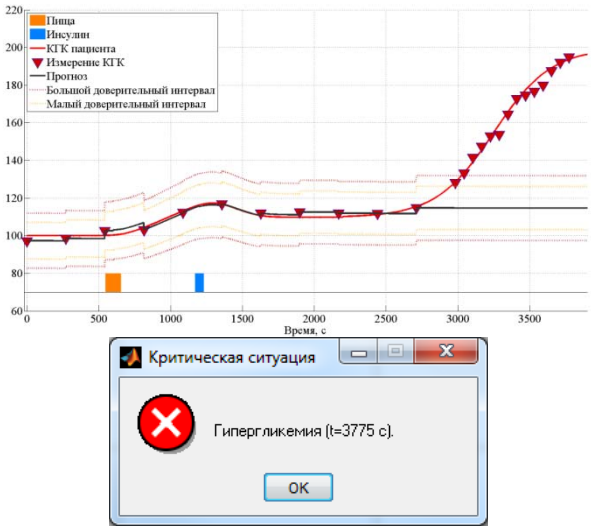


Рис. 5. Пример детектирования риска гипергликемии

Заключение. В заключение можно отметить, что алгоритм продемонстрировал полное соответствие поставленным задачам. Выбранная концепция его построения позволяет осуществлять прогнозирование уровня КГК пациента, вычисление болюсной дозы инсулина, детектирование неполадок инфузионной подсистемы ААИ, детектирование случаев некорректного ввода информации пользователем, определение ошибочных измерений КГК, оповещение пользователя об опасных уровнях КГК. Данные возможности алгоритма делают его применимым в составе аппарата автоматизированной инсулинотерапии, а результаты проведённой апробации демонстрируют его перспективность и возможность проведения более сложного и комплексного тестирования с целью повышения эффективности замкнутой системы управления.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Соглашение № 14.578.21.0186, уникальный идентификатор проекта – RFMEFI57816X0186)

DEVELOPMENT OF ALGORITHM OF SHORT-TERM PREDICTION OF GLUCOSE CONCENTRATION IN BLOOD FOR USE IN THE APPARATUS OF AN AUTOMATED INSULIN THERAPY

A.P. RUDENKO

National research University "MIET", Shokin Sq., 1, Zelenograd, Moscow, 124498, Russia

Abstract. An algorithm for short-term prediction of blood glucose concentration based on a mathematical model of glucose dynamics in the patient's blood is developed. As a mathematical model, a piecewise approximation of the dynamics of blood glucose concentration by the sites of logistic function is used. The algorithm compares the calculated and measured values of glucose concentration in the blood and based on the results of the comparison, it produces the necessary output signals. The algorithm allows to predicting the level of glucose, to informing the users about emergency situations, to calculating the insulin dose, to detecting incorrect information input. The algorithm was tested using pre-prepared sets of input data reflecting patient parameters. During the testing it was found that the chosen concept of the algorithm allows to solve the whole set of tasks assigned to the algorithm. According to the results of testing, it can be concluded that the application of the proposed algorithm as part of the automated insulin therapy apparatus is promising.

Key words: mathematical model, forecasting, apparatus of automated insulin therapy, blood glucose concentration.

Литература

1. Базаев Н.А., Пожар К.В., Руденко П.А. Математическое моделирование динамики глюкозы в крови // Медицинская техника 2014. №6. С. 8–11.

2. ВОЗ. Информационный бюллетень. Диабет. URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/

References

1. Bazaev NA, Pozhar KV, Rudenko PA. Matematicheskoe modelirovanie dinamiki glyukozy v krovi [Mathematical modeling of blood glucose dynamics]. Medicinskaya tekhnika. 2014;6:8-11. Russian.

2. WHO. Newsletter. Diabetes. URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/

3. Руденко П.А., Базаев Н.А., Пожар К.В., Литинская Е.Л., Гринвальд В.М., Чекасин А.И Метод получения дневных треков концентрации глюкозы в крови по клиническим протоколам базы данных DirecNet // Медицинская техника. 2017. №5. С. 31–34.

4. Bequette B.W. Algorithms for a closed-loop artificial pancreas: the case for model predictive control // Journal of diabetes science and technology. 2013. Т. 7, № 6. С. 1632–1643.

5. Pinsker J.E. Randomized crossover comparison of personalized MPC and PID control algorithms for the artificial pancreas // Diabetes Care. 2016. Т. 39, № 7. С. 1135–1142.

3. Rudenko PA, Bazaev NA, Pozhar KV, Litinskaya EL, Grinval'd VM, CHekasin AI. Metod polucheniya dnevnyh trekov koncentracii glyukozy v krovi po klinicheskim protokolam bazy dannyh DirecNet [Method for obtaining daily tracks of blood glucose concentration according to clinical protocols of DirecNet database]. Medicinskaya tekhnika. 2017;5:31-4. Russian.

4. Bequette BW. Algorithms for a closed-loop artificial pancreas: the case for model predictive control. Journal of diabetes science and technology. 2013;7(6):1632-43.

5. Pinsker JE. Randomized crossover comparison of personalized MPC and PID control algorithms for the artificial pancreas. Diabetes Care. 2016;39(7):1135-42.

ВЕСТНИК НОВЫХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ – 2018 – Т. 25, № 3 – С. 250–255

JOURNAL OF NEW MEDICAL TECHNOLOGIES – 2018 – V. 25, № 3 – P. 250–255

УДК: [611.13/.16+611.423]:616-006-092.9

ИЗУЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЗМЕРИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ОПТИЧЕСКОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ МИКРОГРАММЕТРИИ И ТОМОГРАФИИ

А.В. ЛЕЩЕНКО

Смоленский филиал «Национального Исследовательского Университета «МЭИ», Энергетический проезд, д. 1, г. Смоленск, Смоленская область, 214013, Россия

Аннотация. Трехмерные реконструкции и математическое моделирование морфологических структур, расположенных в пространстве микроскопических анатомических препаратов и гистологических срезов, имеют важное значение для понимания микроскопической конструкции органов и тканей. Классические методы объемных реконструкций, основанные на анализе серийных срезов, чрезвычайно трудоемки. Предложен алгоритм измерительного процесса, позволяющий определять глубину залегания оптически контрастных структур внутри микроскопического препарата. Принцип измерительного приема заключается в использовании в микроскопе вместо обычного конденсора мощного точечного источника света для освещения прозрачного препарата из двух точек, лежащих в горизонтальной плоскости на заданном расстоянии друг от друга, параллельной плоскости предметного стола микроскопа. Получены количественные характеристики измерительного процесса в оптической компьютерной микрограмметрии и томографии и определены оптимальных конструктивных параметров изделия, реализующего этот алгоритм. Анализ характеристик проводился при помощи системы автоматизированного проектирования *Mathcad* 15.0. Показана работоспособность предложенного метода и возможность его физической реализации в виде оптической микрограмметрической томографической приставки к световому микроскопу. Даны рекомендации по постановке технического задания для конструкторской разработки такого изделия. Показаны технические преимущества такого изделия и возможные способы его реализации. Сформулирована проблема однозначной диференциации соответствующих точек на сопряженных изображениях.

Ключевые слова: измерительный процесс, оптическая компьютерная микрограмметрия и томография, глубина залегания структур, микроскопический препарат.

Точные трехмерные реконструкции и математическое моделирование морфологических структур, расположенных в биологическом пространстве макро-микроскопических анатомических препаратов и гистологических срезов, имеют важное значение для понимания конструкции структурно-функциональных единиц органов и тканей. Классические методы объемных реконструкций, основанные на анализе серийных срезов, чрезвычайно трудоемки [1], не дают точных количественных характеристик формы и пространственного расположения биологических оптически контрастных структур, что не позволяет получать их точные геометрические модели и пространственные координаты. Предложен алгоритм измерительного процесса, позволяющий одним измерительным приемом определять глубину залегания всех оптически контрастных структур внутри макро-микроскопического и гистологического препарата, попавших в пространство глубины поля зрения объектива микроскопа по отношению к одной из плоскостей, ограничивающих это пространство [2-4]. Принцип измерительного приема заключается в использовании в микроскопе вместо обычного конденсора мощного точечного источника света для освещения прозрачного препарата из двух точек, лежащих в горизонтальной плоскости на заданном расстоянии друг от друга, параллельной плоскости предметного стола микроскопа. При этом получаются два сопряженных изображения одного и того же участка микроскопического препарата. При наложении этих изображений друг на друга однозначно дифференцируемые точки оптически контрастных структур не будут накладываться друг на друга, т.е. будут дифференцироваться как две различные точки. Измерив расстояние между ними в горизонтальной плоскости и зная расстояние от источника света до нижней плоскости пространства глубины резкости объектива микроскопа, можно определить глубину залегания или высоту расположения этих точек над этой плоскостью. Техническая реализация этого измерительного приема и измерительного алго-

ритма является относительно легко решаемой инженерной задачей, а сам приём достаточно просто поддается математическому моделированию, позволяющему оптимизировать параметры измерительной установки. Учитывая физические характеристики точечного источника света, величину его смещения в горизонтальной плоскости, расстояния от этой плоскости до заданной горизонтальной плоскости внутри микроскопического препарата, оптические характеристики объектива микроскопа (величину пространства глубины резкости), можно построить математическую модель измерительного приема, позволяющую изучить измерительные возможности установки еще до ее физической реализации и показать ее измерительные возможности. Современные достижения в области точной механики, светооптической микроскопии, микроэлектроники, систем технического зрения, компьютерной обработки цифрового изображения и программирования позволяют создать светооптическую микрограмметрическую томографическую приставку к обычному световому микроскопу, включающую систему технического зрения и компьютер, которые превратят его фактически в новое устройство: оптический микрограмметрмический компьютерный томограф.

Цель исследования – изучение количественных характеристик измерительного процесса в оптической компьютерной микрограмметрии и томографии и определение оптимальных конструктивных параметров изделия, реализующего этот алгоритм.

Материалы и методы исследования. Изучение количественных характеристик измерительного процесса проводилось при помощи системы автоматизированного проектирования *Mathcad* 15.0

Результаты и их обсуждение. Сущность измерительного процесса в оптической компьютерной микрограмметии и томографии заключается в следующем. На предметном столике жестко закрепляется макромикроскопический или гистологический препарат, включается точечный источник света, создающий конически расходящийся пучок лучей, который может находиться в двух положениях. Регистрируются цифровые изображения препарата в каждом положений источника света, смещаемого в плоскости параллельной плоскости препарата на величину s. При просмотре препарата на всю глубину перефокусировка микроскопа осуществляют с шагом m, равным величине глубины резкости объектива микроскопа. Глубину h_i залегания i-ой структуры в препарате определяют по формуле:

$$h_{i(n)} = \frac{[H-(2j-1)(n-1)m]l_{i(n)}}{s+l_{i(n)}} + (n-1)m, \qquad (1)$$

где n=1,2,3,..., N – номер шага перефокусировки; H – расстояние между плоскостью, в которой расположен источник света, и выбранной поверхностью P_j препарата; $l_{i(n)}$ – величина смещения проекции i-ой точки препарата на сопряженной паре изображений на n-м шаге перефокусировки; (j=0,1), где j=0 – при перефокусировке снизу-вверх, j=1 – при перефокусировке сверху-вниз [2-4].

Алгоритм способа определения глубины залегания дискретных оптически контрастных структур в прозрачных микроскопических препаратах состоит в следующем:

1. Микроскопический препарат устанавливают и фиксируют на предметном столике микроскопа и освещают точечным источником света, который можно перемещать на стандартное расстояние $s=s_1s_2$ в горизонтальной плоскости, параллельной плоскости предметного столика микроскопа и расположенной на расстоянии H от выбранной поверхности препарата, из положения s_1 в положение s_2 и обратно.

2. Фокусируют микроскоп так, чтобы передняя граница глубины резкости микроскопа совпала с выбранной поверхностью препарата P_j (рис. 1). Контроль точности фокусировки проводят путем смещения точечного источника света на стандартное расстояние. При этом дискретные структуры, лежащие на этой поверхности, должны оставаться неподвижными.

3. Получают два сопряженных изображения: одно – из положения точечного источника s_1, другое – из положения s_2 (рис.1).

4. Проводят перефокусировку микроскопа с шагом m. Повторяют п. 3, повторяют п. 4 до тех пор, пока не будет просмотрен весь препарат сверху вниз (j=1) или наоборот (j=0).

5. На сопряженных парах изображений находят однозначно дифференцируемые светоконтрастные точки. После их наложения, в каждой сопряженной паре измеряют величины смещений проекций найденных точек l (рис. 1).

6. По формуле (1) определяют глубину залегания $h_{(i)}$ изучаемой структуры в препарате по отношению к верхней поверхности послед-

него при просмотре сверху вниз (j=1), либо по отношению к нижней поверхности последнего при просмотре снизу вверх (j=0).

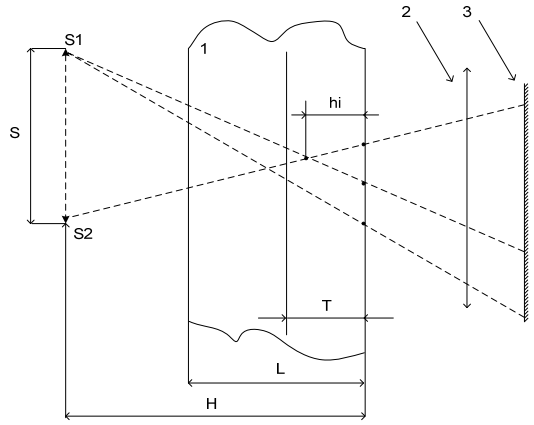


Рис. 1. Схема способа. 1 – микроскопический препарат; 2 – микроскоп; 3 – экран

1. Исследование зависимости $l_{i(n)}(S)$, где i=1, n=1; j=0; h_i=5 мкм; H=10000 мкм; m=0 мкм; T=10 мкм; L=10 мкм; S=*var* (в интервале от 1000 до 10000 мкм).

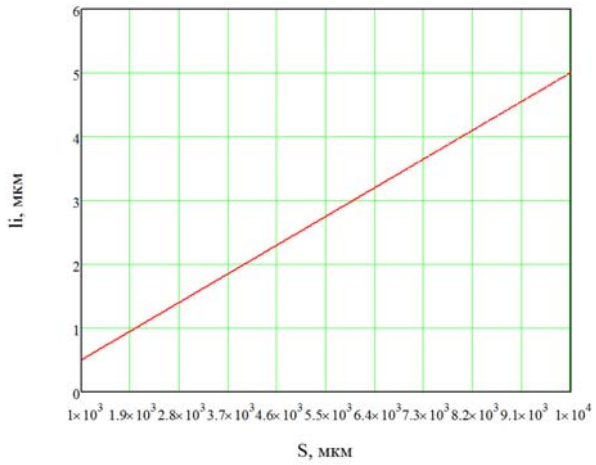


Рис. 2. Зависимость $l_{i(1)}(S)$

Из графика (рис. 2) видно, что зависимость имеет линейный характер и чем больше смещение источника света S относительно своего первоначального положения, тем больше будет величина смещения проекции изучаемой структуры $l_{i(n)}$.

Из графика (рис. 3) видно, что зависимость имеет обратно-пропорциональный характер, т.е. с увеличением расстояния между плоскостью смещения источника света и поверхностью препарата H, уменьшается смещение проекции изучаемой структуры $l_{i(n)}$.

2. Исследование зависимости $l_{i(n)}(H)$, где i=1, n=1; j=0; h_i=5 мкм; H=*var* (в интервале от 1000 до 30000 мкм); m=0 мкм; T=10 мкм; L=10 мкм; S=5000 мкм.

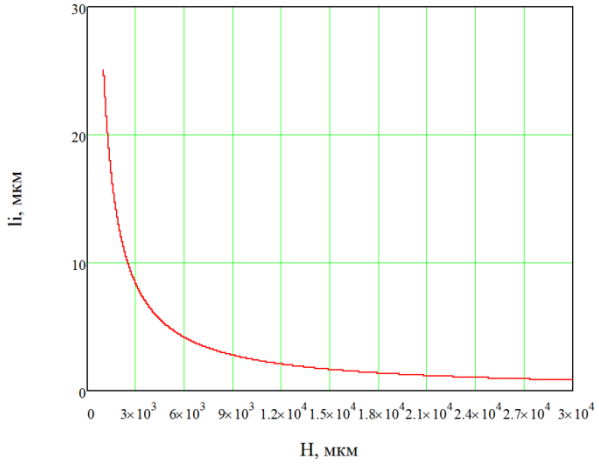


Рис. 3. Зависимость $l_{i(n)}(H)$

3. Исследование зависимости $l_{i(n)}$ (S, H), где i=1, n=1; j=0; m=0 мкм; h_i=5 мкм; T=10 мкм; L=10 мкм; S=*var* (в интервале от 1000 до 10000 мкм); H=*var* (в интервале от 1000 до 30000 мкм).

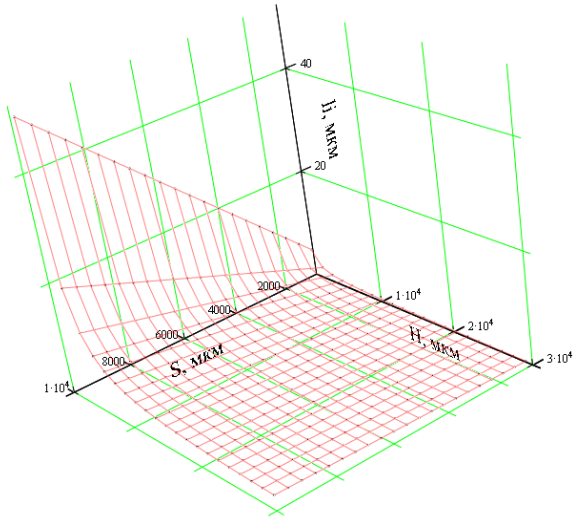


Рис. 4. Зависимость $l_{i(n)}(S, H)$

На графике поверхности (рис. 4) видно, что наибольшие величины смещения проекций изучаемых структур $l_{i(n)}$, лежат в области максимальных значений S и минимальных значений H.

4. Исследование зависимости $l_{i(n)}(h_i,S)$, где i=1, n=1; j=0; m=0 мкм; T=10 мкм; L=10 мкм; H=10000 мкм; S=*var* (в интервале от 1000 до 10000 мкм); h_i=*var* (в интервале от 1 до 10 мкм)

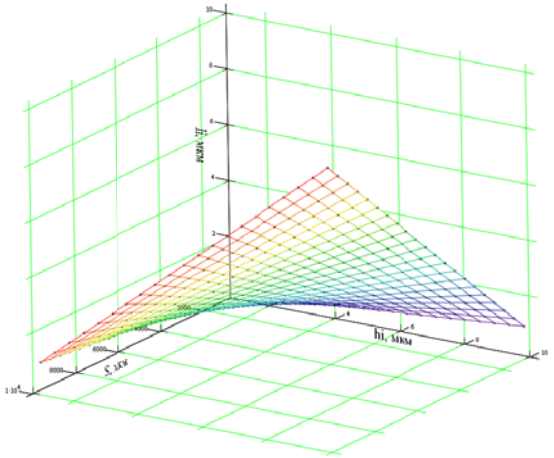


Рис. 5. Зависимость $l_{i(n)}(h_i, S)$

На графике поверхности (рис. 5) видно, что наибольшие величины смещения проекций изучаемых структур $l_{i(n)}$ соответствуют наибольшим значениям глубин их залегания h_i и наибольшим значениям смещений источника света *S*.

На графике поверхности (рис. 6) видно, что наибольшие величины смещения проекций изучаемых структур $l_{i(n)}$ соответствуют наибольшим значениям глубин их залегания h_i и наименьшим значениям расстояний между плоскостью смещения источника света и поверхностью препарата *H*.

Полученные характеристики рассматриваемого измерительного процесса показывают работоспособность метода: при минимальных расстояниях точечного источника света от поверхности препарата *H* и максимальных значениях смещений точечного источника света *S* наблюдаются значительные смещения проекций изучаемых структур $l_{i(n)}$, залегающих на разных глубинах h_i в биологическом пространстве препарата. Полученные результаты доказывают возможность физической инженерной реализации этого измерительного процесса в виде свето-оптической микрограмметрической томографической приставки к обычному световому микроскопу и могут быть положены в основу *технического задания* (ТЗ) *опытно-конструкторской разработки* (ОКР) такого изделия, не имеющего аналогов в свето-оптической измерительной микроскопии.

5. Исследование зависимости $l_{i(n)}(h_i, H)$, где i=1, n=1; j=0; m=0 мкм; T=10 мкм; L=10 мкм; S=5000 мкм; H=*var* (в интервале от 1000 до 30000 мкм); h_i=*var* (в интервале от 1 до 10 мкм).

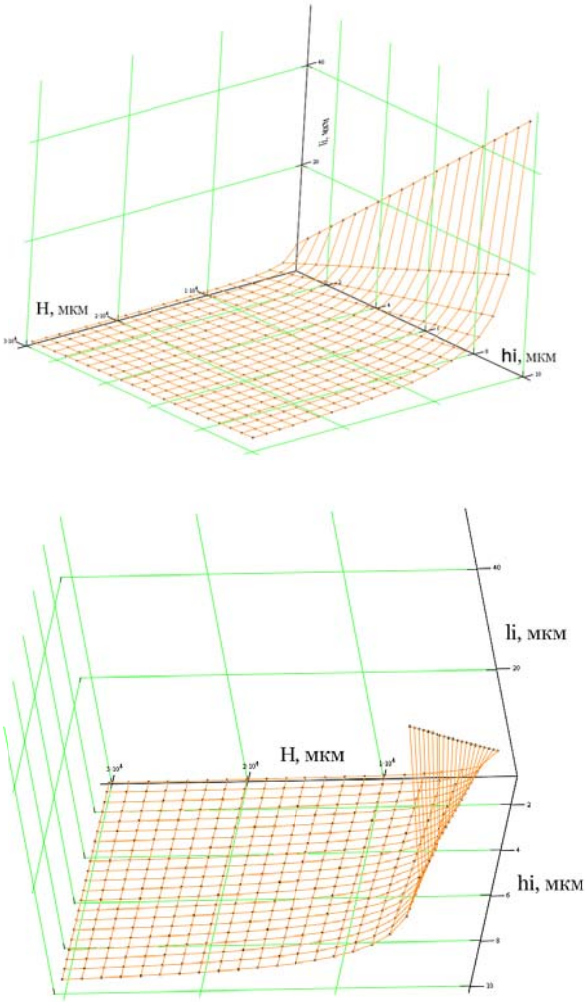


Рис. 6. Зависимость $l_{i(n)}(h_i, H)$

Преимущества такого изделия заключаются в следующем:

– определение глубины залегания структур препарата ведут по параметру, измеряемому в горизонтальной плоскости $l_{i(n)}$, т.е. в плоскости зрения микроскопа, что значительно проще для регистрации и дает более высокую точность измерения, чем вдоль оптической оси микроскопа;

– одновременно достигается повышение скорости и производительности измерений, т.к. одновременно регистрируются все смещения структур $l_{i(n)}$, попавших в поле зрения микроскопа, и одним измерительным приемом по сопряженной паре изображений можно получить глубины залегания всех дискретных оптически контрастных однозначно дифференци-

руемых структур препарата, попавших в пространство глубины резкости микроскопа на *n*-м шаге перефокусировки.

Электромеханическая часть приставки должна быть спроектирована таким образом, чтобы обеспечивалась автоматическая прецизионная перефокусировка микроскопа на величину m, равную значению глубины резкости используемого объектива микроскопа. Регистрация светового потока должна осуществляться матрицей с высоким разрешением для определения малых значений смещений $l_{i(n)}$ порядка 1-2 мкм.

Программный комплекс управления и обработки информации может быть реализован двумя способами:

1. Макро-микроскопический анатомический препарат или гистологический срез содержит дискретные однозначно дифференцируемые морфологические структуры. При этом, эти точки в препарате определяет непосредственно оператор-исследователь, отмечая их на дисплее с помощью светового пера на сопряженных изображениях, полученных при смещениях точечного источника света. Автоматически определяются координаты (x,y,z) для этих точек по отношению к выбранной системе координат. После обработки полученной информации, она может быть представлена в виде изображения на дисплее, либо распечатана на в виде физической модели на *3D*-принтере.

2. Макро-микроскопический анатомический препарат или гистологический срез содержит сложные морфологические структуры, с отдельными дискретными однозначно дифференцируемыми точками. При этом, система автоматически определяет однозначно соответствующие точки и смещения их проекций. В этом случае система должна быть самообучаемой: для определения структур должны быть заранее определены их образы, т.е. заданы их цвет, примерная форма, характер распределения. На этапе обучения программы с системой должен работать оператор-исследователь, который вносит корректировки в процесс измерения после каждой итерации.

Выводы. Предложенный способ может быть относительно просто реализован с достаточной степенью точности для макро-микроскопических анатомических препаратов или гистологических срезов содержащих дискретные однозначно дифференцируемые морфологические структуры. С аналоговыми же структурами будет возникать неопределенность в результатах, в связи с проблемой однозначной дифференциации соответствующих точек структур на сопряженных изображениях. Решение этой проблемы представляет собой сложнейшую математическую задачу, решение которой – дело будущего.

RESEARCH OF THE MEASURING PROCESS IN AN OPTICAL MICROSCOPIC COMPUTER TOMOGRAPHY

A.V. LESHCHENKO

Smolensk branch of National Science University Moscow Power Engineering Institute, Energeticheskiy proezd, 1, Smolensk, Smolensk, 214013, Russia

Abstract. Three-dimensional reconstruction and mathematical modeling of morphological structures located in the space of microscopic slides and tissue sections are important for the understanding of the microscopic structure of organs and tissues. Classical methods of volumetric reconstructions based on an analysis of serial sections, is extremely time-consuming.The algorithm of the measurement process, which allows to determine the depth of the optical contrast structures in microscope slide. The quantitative characteristics of the measuring process in an optical computer tomography and determine the optimal design parameters of the product that implements the algorithm. An analysis of the characteristics was carried out using computer-aided design Mathcad 15.0It is shown that the proposed method of operation and the possibility of its physical implementation in the form of an microscopic optical tomographic attachment to a light microscope. Recommendations on the formulation of technical specifications for the design development of such a product. Technical advantages of the products and possible ways of its implementation are shown. We formulate the problem of clear differentiation of corresponding points on the linked images.

Key words: Processes for measuring, microscopic optical tomography, depth structures, microscope slide.

Литература

1. Глотов В.А. Алгоритм для оптической микроскопической компьютерной микрограмметрии и томографии // Вестник новых медицинских технологий. 2002. №4. С. 98–104.

2. Глотов В.А. Способ определения глубины залегания структур в микроскопических препаратах. Патент №1804612 РФ.

3. Глотов В.А. Структурный анализ микрососудистых бифуркаций. (Микрососудистый узел и гемодинамический фактор). Смоленск: АО «Ами-пресс», 1995. 251 с.

4. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М.: Иностранная литература, 1953. С. 209-216.

References

1. Glotov VA. Algoritm dlya opticheskoj mikroskopicheskoj komp'yuternoj mikrogrammetrii i tomografii [The algorithm for optical microscopic computer tomography and microgramma]. Vestnik novyh medicinskih tekhnologij. 2002;4:98-104. Russian.

2. Glotov VA, Inventors. Sposob opredeleniya glubiny zaleganiya struktur v mikroskopicheskih preparatah [Method for determining the depth of structures in microscopic preparations]. Russian Federation patent RU №1804612. Russian.

3. Glotov VA. Strukturnyj analiz mikrososudistyh bifurkacij. (Mikrososudistyj uzel i gemodinamicheskij faktor) [Structural analysis of microvascular bifurcations. (The site of microvascular and hemodynamic factor)]. Smolensk: AO «Amipress»; 1995. Russian.

4. Romejs B. Mikroskopicheskaya tekhnika [. Microscopic technique]. Moscow: Inostrannaya literatura; 1953. Russian.

ПАМЯТИ ТОВАРИЩА

12.08.2018 на 66 году жизни скоропостижно скончался академик Европейской академии естественных наук, Академии медико-технических наук, Лауреат Государственной премии РФ и Премии Правительства РФ, доктор технических наук, профессор **ХРУПАЧЁВ АЛЕКСАНДР ГЕННАДЬЕВИЧ.**

В 1976 году, после окончания института, был распределен на Тульский оружейный завод, где прошел путь от мастера цеха точной механики до заместителя главного технолога завода. Под его непосредственным техническим руководством на предприятии было освоено и поставлено на производство более 20-и новых изделий гражданского и военного назначения. За реализацию в этих работах пионерских, не имеющих аналогов, инженерно-технические решений ему были присуждены Премия научных обществ и инженерных организаций СССР и премия им. С.И. Мосина.

В период с 1987 по 1991 год, находился в служебной командировке в Индии, где руководил конструкторско-технологической подготовкой и постановкой на производство противотанкового ракетного комплекса «Конкурс».

В 1991 году им были сформулированы основные научные и организационные принципы Системы гибких технологий. За практическую реализацию этой концепции на оборонных предприятиях страны, ему, в 1994 году, присваивается звание лауреата Государственной премии Российской Федерации.

После перевода 1994 году на работу в ОАО АК «Туламашзавод», заместителем директора по науке и технике, занимался вопросами производственной и экологической безопасности. В 1999 году, за внедрение комплексной программы по обеспечению экологической безопасности машиностроительного предприятия в условиях крупного индустриально-городского образования, ему присуждена премия Правительства РФ в области науки и техники.

С 1993 года начал преподавательскую работу в Тульском государственном университете на кафедрах «Ракетостроение», «Производство машин и аппаратов», «Аэрологии, охраны труда и окружающей среды», «Макроэкономика».

В 1998 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата технических наук, а в 2004 году докторскую диссертацию. Обе работы выполнены без отрыва от производства.

В 2004 году был приглашен на постоянную работу в Тульский государственный университет, где им были разработаны учебно-методические материалы по дисциплинам: «Безопасность производства и эксплуатация ракет и ракетных комплексов», «Испытания летательных аппаратов», «Спецтехнологии машиностроения», «Экономическое обоснование конструкторско-технологической подготовки производства», «Производственная безопасность», «Промышленная экология», «Производственная санитария и гигиена труда», «Токсикология», «Медико-биологические и психологические аспекты безопасности жизнедеятельности», «Надежность технических систем и техногенный риск». С 2006 г руководитель студенческого научного общества университета.

Был автором более 80 научных трудов, 4 монографий, 1 учебника и 10 патентов. По направлениям научных исследований участвовал и выступал с докладами на Международных конгрессах и конференциях в Германии, Швеции, Израиле, США и др. странах. С 2000 г. являлся международным экспертом по системе управления окружающей средой (*EMAS, ISO* 14001, 14010, 14011, 14012).

Был Членом Отделения фундаментальных медико-биологических исследований Европейской академии естественных наук. Награжден европейской медалью Р. Коха (*EANW*).

Редакционная коллегия журнала «Вестник новых медицинских технологий» выражает соболезнование родным и близким Хрупачёва А.Г.

Юбиляру

ХАДАРЦЕВА КЫЗЫЛГУЛЬ АБДУРАХМАНОВНА, академик Академии медико-технических наук, Российской академии естествознания, Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии медицинского института Тульского государственного университета.

Родилась 10 сентября 1943 г. После окончания с серебряной медалью средней школы в 1960 г., поступила в Северо-Осетинский государственный медицинский институт, который окончила в 1966 г. С 1966 по 1974 г. работала в Чернской ЦРБ Тульской области районным акушером-гинекологом. С 1974 по 1985 – врач-гинеколог гинекологического отделения Тульской областной больницы, с 1985 по 1986 – зам. главного врача родильного дома № 2 г. Тулы, с 1986 по 1988 – главный врач родильного дома № 2 г. Тулы, который был оснащен и введен ею в эксплуатацию, с 1988 по 1992 – врач и зав. консультативно-диагностического отдела женской консультации Тульской областной больницы, с 1992 по 2008 – главный врач ГУЗ «Тульский областной центр планирования семьи и репродукции», инициатор его образования. С 2001 по 2009 г.– доцент, а с 2010 г. – профессор кафедры акушерства и гинекологии медицинского института Тульского государственного университета.

Ученые степени, звания: доктор медицинских наук, доцент, профессор по кафедре акушерства и гинекологии, акушер-гинеколог высшей категории.

Академическая деятельность (общественные академии). Избрана академиком Академии медико-технических наук РФ (АМТН) и Российской академии естествознания (РАЕ); член Отделения фундаментальных медико-биологических исследований Европейской академии естественных наук (*EANW*).

Основные направления научной деятельности: развитие медико-биологических аспектов теории хаоса и синергетики применительно к акушерству и гинекологии, математические методы в медицине, восстановительная медицина, физиотерапия, гирудотерапия, ультразвуковые исследования.

Общий стаж – 52 года, научно-педагогический стаж – 18,5 лет.

Ведет педагогическую работу по научной специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология» с 01 сентября 1999 года до настоящего времени. Читает лекции по предметам: «Акушерство и гинекология», «Детская гинекология», проводит практические занятия: по акушерству и гинекологии, фантомный курс по практическим навыкам в акушерстве и гинекологии студентам, врачам-интернам, ординаторам и аспирантам.

Участвует в последипломной подготовке врачей акушеров- гинекологов, рецензирует диссертации и выступает в качестве официального оппонента при защите диссертаций.

Участвует в организации и проведении научно-практических конференций для врачей, тематических семинаров для ординаторов и аспирантов, посещает международные форумы «Мать и Дитя». Имеет 123 публикации, из них 5 учебных изданий по дисциплине «Акушерство и гинекология», соавтор 12 монографий, имеет 1 патент на изобретение и дипломы на 2 открытия. Научный руководитель 4 защищенных кандидатских диссертаций, и продолжает руководить научными работами 2 аспирантов.

Регулярно повышает свою профессиональную квалификацию.

Государственные и отраслевые награды: награждена в 2002 г. – почетным званием «Заслуженный врач Российской Федерации», в 2003 г. – «Знаком ордена Доброты» администрации Тульской области.

Общественные награды: В 2010 г. – памятная медаль Союза женщин России «За личный вклад в становление и развитие Тульского областного отделения «Союза женщин России».

Общественная деятельность. Активный организатор движения наставничества в областной больнице в 80-е годы XX века, работала в областном Совете женщин. В течение многих лет была членом Президиума, а с 1999 г. – директором общественной организации «Тульское отделение Российской ассоциации планирования семьи».

Редакция журнала «Вестник новых медицинских технологий» поздравляет юбиляра и желает ему многих лет плодотворной научной и практической деятельности, здоровья и благополучия.

К статье авторов:* *Е.В. Енькова, Д.А. Атякшин, О.В. Гайская, О.В. Хоперская
«Оценка популяции тучных клеток децидуальной ткани и статуса витамина D у женщин с неразвивающейся беременностью в эмбриональном периоде»

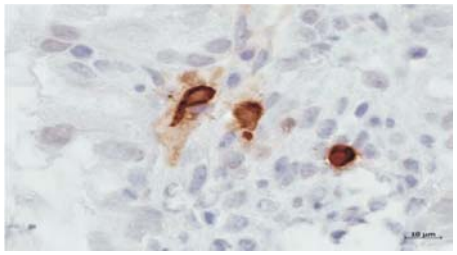


Рис. 1. Высокое содержание триптаза-позитивных тучных клеток в децидуальной ткани у женщин 2-й группы. Секреция триптазы

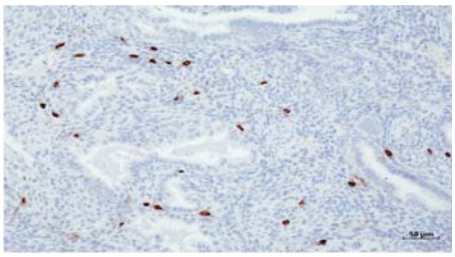


Рис. 2. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью.

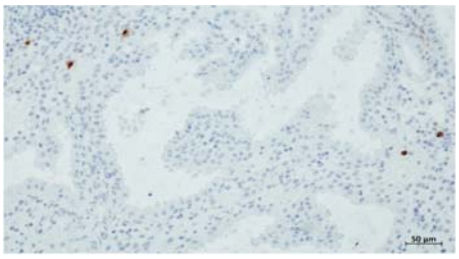


Рис. 3. Децидуальная ткань женщины группы контроля

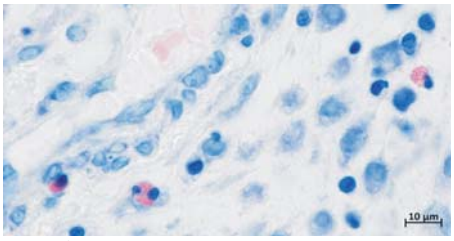


Рис. 4. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью. Определяется большое количество эозинофильных гранулоцитов

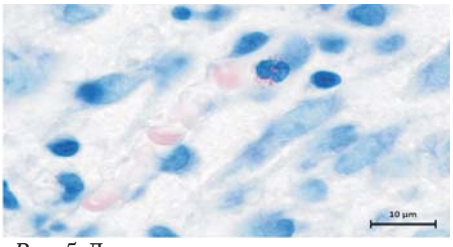


Рис. 5. Децидуальная ткань женщины группы контроля. Определяется прилежание эозинофильного гранулоцита к стенке капилляра

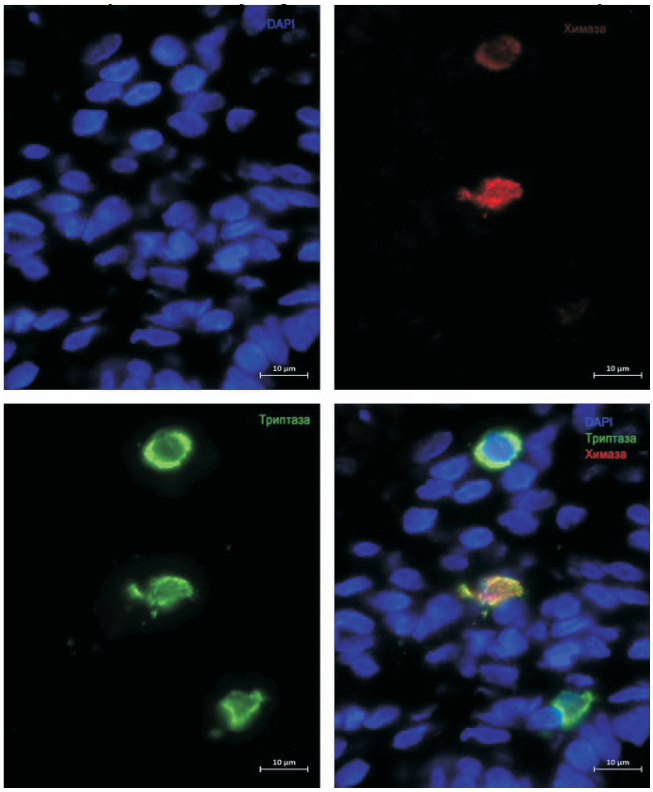


Рис. 6. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью. Множественное иммуномаркирование триптазы и химазы тучных клеток. Наблюдаются экспрессия химазы и триптазы в тучных клетках

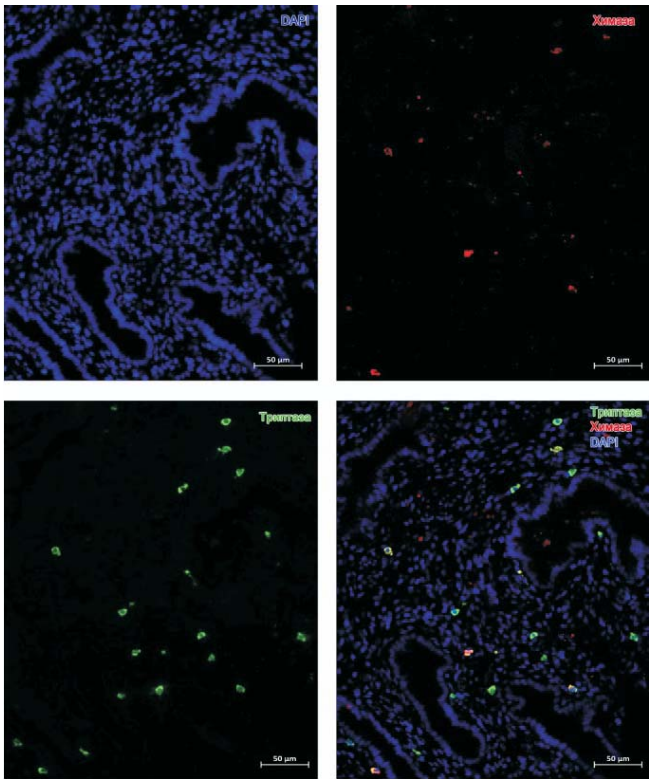


Рис. 7. Децидуальная ткань женщины с замершей беременностью