

4. Тулаева О. Н. Репаративная регенерация мышечно-сухожильного соединения в условиях применения повышенной гравитации краниокаудального направления: автореферат дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук. Саранск, 2003.
5. Ямщиков Н. В., Григорьева Ю. В., Ардашкин А. П. Морфологические аспекты прижизненного и посмертного повреждения скелетных мышц. Самара, 2011.
6. Ямщиков Н. В., Суворова Г. Н. Морфология сфинктерного аппарата прямой кишки. Самара, 2003.

*Воронцова З. А., Кудалева Э. Ф.,
Селявин С. С., Минасян В. В.*

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ С РАЗНОЙ СКОРОСТЬЮ ОБНОВЛЕНИЯ В СОСТАВЕ ОРГАНОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОБЕДНЕННОГО УРАНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Кафедра гистологии (заведующий – проф. З. А. Воронцова)
Воронежского медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, Воронеж,
e-mail: z.vorontsova@mail.ru*

В последнее время внимание исследователей привлекают интегративные показатели, характеризующие реактивность и резистентность организма, определяющие пути повышения его устойчивости на фоне непрерывности процессов самоизменения и самообновления. Исходя из индивидуальных возможностей реактивности системных образований организма наиболее перспективным и приоритетным направлением является исследование радиорезистентности органов с разной тканевой организацией и способностью к обновлению: стабильных, обновляющихся и экспансирующих [1]. Системный подход к решению проблемы регенерации позволит охарактеризовать возможности тканевого обновления на уровне организма, происходящие при воздействии экспериментальных факторов. В настоящее время расширился круг проблем, касающихся возрастания воздействия антропогенных факторов и в том числе безопасности применения современного оружия с обедненным ураном (ОУ), загрязняющего территории продуктами взрывов и влияющих на здоровье военнослужащих и гражданского населения. Отдаленные последствия применения такого оружия остаются до конца не ясными. Нерешенность проблемы сохранила ее актуальность. В ряде последних работ был отмечен длительный характер поражения некоторых органов, что определило его опасность для жизнедеятельности [4,7].

Цель исследования – выявить морфофункциональное состояние органов, имеющих разный диапазон потенциалов к восстановлению в динамике отдаленных сроков после однократного инкорпорирования водного раствора оксидов ОУ.

Методы исследования. В экспериментальной модели на белых половозрелых лабораторных крысах-самцах были исследованы биоэффекты водного раствора

оксидов обедненного урана (ОУ) после однократного его введения в пищевой рацион в дозе 0,01 мг на 100 г массы спустя один, три и шесть месяцев. Начальный возраст крыс составил четыре месяца. Исследовано 180 крыс, из них 30 – контрольные. Гипоталамус, околоушные железы (ОУЖ) и тощую кишку (ТК) фиксировали в жидкости Бейкера с последующей заливкой в парафин после стандартной процедуры обезвоживания. Серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 5–6 мкм окрашивали паральдегид-фуксином по Гомори, продольные срезы ТК и околоушных желез окрашивали гематоксилином-эозином. Был проведен ряд гистохимических реакций на выявление активности дегидрогеназы (СДГ, ЛДГ, Г6Ф) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в ТК и ОУЖ, а также иммуногистохимических реакций в ТК на Vcl-2 и Ki67. Проведены морфометрические исследования с последующей статистической обработкой данных.

Результаты исследования и обсуждение. Однократное введение в пищевой рацион водного раствора оксидов ОУ вызывало значительные изменения в исследуемых органах [2]. При изучении секреторных нейронов (СН) в супраоптических ядрах гипоталамуса (СОЯ) по содержанию в них нейросекрета и определяли их процентное соотношение, по классификации А.Л. Поленова: «повышенной активности», «умеренной активности», «депонирования», «покоя» и «физиологической дегенерации» [5]. Во всех возрастных группах биологического контроля было установлено преобладание СН «повышенной активности» и «депонирования» ($p < 0,05$). Причем у десятимесячных крыс содержание СН в состоянии «умеренной активности» и «покоя» было приблизительно одинаково, число «дегенерирующих» СН не изменялось во все исследуемые сроки.

Распределение морфологических типов и сопровождающих их глиальных элементов практически не отличалось в хронодинамике отдаленных сроков. При подсчете нейроглиального отношения (перинеурональный индекс – среднее число глии на один нейрон при подсчете на 100 нейронов) было установлено, что нейроглиальный индекс у СН «повышенной активности» снижался, что способствовало увеличению контактов между ними и активации СОЯ в целом. У СН «покоя» нейроглиальный индекс не изменялся в течение всего эксперимента, а у СН «депонирования» – снижался спустя три месяца и максимально возрастал через шесть месяцев ($p < 0,05$). Такие изменения нейроглиального индекса могут служить критерием функциональности СН для деятельности СОЯ гипоталамуса. В эксперименте сохранялось соответствующее соотношение. Однако, в хронодинамике отдаленности исследуемых сроков число СН «повышенной активности» снижалось в обратной зависимости, а в состоянии «умеренной активности» было снижено спустя месяц ($p < 0,05$). В остальные сроки изменений не было.

Число СН в состоянии «депонирования» возрастало спустя один и шесть месяцев и снижалось через три месяца ($p < 0,05$), а в состоянии «покоя» – возрастало спустя один и три месяца и было снижено спустя шесть месяцев. Число дегенерирующих нейронов достоверно возрастало спустя месяц и было незначительно снижено в остальные сроки. Наблюдалось снижение численности окружающих глиоцитов, при этом минимальные значения достигались у секреторных нейронов в «состоянии покоя». Динамика изменений глиального компонента свидетельствует о его высокой чувствительности как об одном из критериев раз-

вивавшихся изменений. Таким образом, активация нейроглии с изменением пенинейронального отношения является проявлением единой неспецифической приспособительной реакции на воздействие экспериментального фактора, в том числе с учетом возрастных изменений.

Состояние околушной железы в условиях эксперимента характеризовалось изменением некоторых исследуемых критериев. При проведении морфометрических исследований распределения светооптической плотности СДГ и ЛДГ в секреторных отделах и исчерченных выводных протоках и Image-анализа было выявлено варьирование интенсивности окраски, размеров гранул формазана и их распределение. Прокрашивание цитоплазмы не наблюдалось в реакциях на СДГ, была отмечена мозаичность распределения гранул формазана с преимуществом крупных и средних размеров, независимо от сроков наблюдения.

В реакциях на ЛДГ крупные гранулы формазана встречались редко, наблюдалось диффузное распределение средних и пылевидных структур. Установлено, что средние показатели оптической плотности дегидрогеназ (СДГ и ЛДГ) независимо от сроков исследования после введения ОУ были достоверно выше контрольных показателей и составили: СДГ – в эксперименте – $686 \pm 11,7$; $700 \pm 21,7$ и $513 \pm 14,1$ (у. е.) спустя один, три и шесть месяцев, а в контроле – $368 \pm 9,2$; $357 \pm 14,5$ и $312 \pm 18,3$ (у. е.) соответственно. ЛДГ – в эксперименте $298,7 \pm 8,2$; $291 \pm 11,8$ и $328 \pm 14,2$ (у. е.), а в контроле – $279,6 \pm 7,1$; $284 \pm 15,2$ и $306 \pm 13,9$ (у. е.) соответственно. В исчерченных выводных протоках реакция дегидрогеназ проявлялась интенсивной окраской диффузно расположенных и сливающихся гранул без достоверных отличий от контроля. Проведение Image-анализа определило изменение площади исчерченных выводных протоков околушной железы в условиях эксперимента с возрастанием ее в два, три и пять раз относительно контроля соответственно срокам ($p < 0,05$). Можно отметить увеличение площади междольковой стромы независимо от сроков наблюдения ($p < 0,05$) по отношению к контролю на 17 %, 14 % и 19 % соответственно. Результаты свидетельствуют о высокой чувствительности паренхимных и стромальных компонентов ОУЖ – органа-мишени по пути поступления водного раствора ОУ.

Морфологостатистический анализ, проведенный по результатам гистохимических реакций в энтероцитах ТК показал, что светооптическая плотность фермента ЩФ испытывала достоверные изменения снижением показателей спустя один месяц, их повышением через три, а к последнему сроку наблюдения достоверных изменений относительно контроля не было. Светооптическая плотность СДГ и ГбФ показала их достоверное возрастание во все экспериментальные сроки, а ЛДГ испытывала снижение спустя один и три месяца и повышение к последнему сроку ($p < 0,05$). Резюмируя полученные данные, можно констатировать нарушение ферментативных процессов, определяющих внутриклеточное пищеварение в хронодинамике отдаленных сроков после воздействия ОУ.

Учитывая ключевую роль лимфоцитов в реализации иммунной регуляции процессов восстановления [3], определили сравнительную динамику показателей общего числа интраэпителиальных лимфоцитов (ИЛ) и митотических клеток с использованием соответствующих моноклональных антител в ИГХ реакциях на выявление универсального маркера пролиферации – Ki67 в эпителиоцитах, ядра

которых экспрессируют данный белок на 20 криптах. При подсчете малых ИЛ отмечено их динамичное изменение. Возрастная динамика изменений в контроле показала незначительное их возрастание в прямой зависимости независимо от топографии. Спустя месяц после воздействия ОУ их общее число достоверно превышало показатели контрольной группы на 20 %, спустя три и шесть месяцев оно достоверно снижалось на 52 % и 18 % соответственно. В криптах было отмечено достоверное возрастание общего числа лимфоцитов в обратной зависимости от отдаленности сроков. Лимфоциты способны усиливать цитокинез и воспроизводить все особенности морфогенеза, если для органа характерен высокий уровень пролиферации. Число ИЛ верхней половины ворсин оказалось выше, чем нижней и в криптах. Выявлена некоторая закономерность, констатирующая, что при достоверном повышении общего числа ИЛ спустя один месяц число Ki67⁺-клеток снижалось и повышалось на фоне снижения числа ИЛ через три месяца ($p < 0,05$) и с меньшей выраженностью через шесть месяцев (табл. 1).

Таблица 1

**ПОКАЗАТЕЛИ СРЕДНИХ ЗНАЧЕНИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ КРИТЕРИЕВ
ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОБЕДНЕННОГО
УРАНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СРОКИ**

Сроки, мес.	Группы	ЩФ	Г6-ФДГ	СДГ	ЛДГ	Ki67+	Bcl-2+
1	Контроль	446,1 ± 8,5	276,5 ± 6,3	348,2 ± 3,5	278,1 ± 10,9	33,4 ± 3,07	8,55 ± 1,44
	ОУ	436,0 ± 4,2	328,0 ± 3,7*	362,7 ± 8,4*	272,1 ± 5,2	32,2 ± 4,7	11,8 ± 1,6
3	Контроль	334,0 ± 4,7	255,3 ± 3,9	266,8 ± 3,5	331,6 ± 3,6	20,8 ± 1,1	8,55 ± 1,44
	ОУ	493,3 ± 8,6*	242,3 ± 4,7*	298,5 ± 5,8*	303,0 ± 5,9*	25,2 ± 2,8*	3,1 ± 0,68*
6	Контроль	327,3 ± 6,4	214,8 ± 6,3	354,4 ± 5,1	272,7 ± 5,3	23,1 ± 2,2	8,55 ± 1,44
	ОУ	324,4 ± 2,8	261,0 ± 4,5*	278,3 ± 5,12*	320,9 ± 4,8*	31,7 ± 3,8*	5,85 ± 0,38*

* результаты статистически достоверны ($p < 0,05$)

По результатам корреляционных показателей был проведен адаптометрический корреляционный анализ по степени скоррелированности исследованных критериев. Спустя один месяц адаптивный эффект был зарегистрирован между Ki67⁺-клетками и всеми гистохимическими параметрами (ЩФ, Г6Ф, СДГ и ЛДГ), а также ИЛ нижней части ворсинок. Через три месяца он был зафиксирован на уровне Ki67⁺-клеток и ИЛ верхней и нижней части ворсинок. Спустя шесть месяцев он наблюдался лишь по отношению к ИЛ нижней части ворси-

нок. Таким образом, адаптивные возможности в хронодинамике наблюдаемых сроков были избирательными и нестабильными.

Необходимо отметить, что эффект скоррелированности, отражающий возникшую адаптивность, был отмечен между Ki67⁺-клетками и ИЛ нижней части ворсинок на всем протяжении эксперимента с наиболее высокими показателями спустя один месяц и низкими — через три месяца. Как правило, состояние тканевого гомеостаза в слизистой оболочке ТК поддерживается за счет баланса между процессами пролиферации и дифференцировки, формируемого программируемой гибелью клеток с участием противоапоптотического белка bcl-2, который был выявлен в энтероцитах при исследовании. Это играет важную роль в процессах иммунной регуляции с участием антиапоптотических bcl-2⁺-клеток. Bcl-2 является центральным регуляторным звеном в антиапоптотических эффектах и клеточной пролиферации [6].

В исследовании bcl-2⁺-клеток верхней половины ворсин были получены следующие результаты: спустя один месяц после воздействия ОУ их число возрастало, а в последующие сроки достоверно снижалось. Таким образом, эффект проявлялся возрастанием их числа при снижении Ki67⁺-клеток спустя один месяц после воздействия ОУ относительно контроля, в последующие сроки на фоне достоверного возрастания Ki67⁺-клеток число bcl-2⁺-клеток было снижено, что, видимо, носило приспособительный характер с попыткой поддержания гомеостаза.

Защитная функция слизистой оболочки ТК в эксперименте проявлялась во взаимодействии всех гистохимических критериев, определяющих транспортные, метаболические, восстановительные и адаптивные процессы в условиях отдаленных последствий однократного применения водного раствора оксидов ОУ. Корреляционный адаптометрический анализ можно считать объяснением к возникновению избирательно возникшего гомеостатического состояния, не определяющего благоприятный исход на фоне десинхронизации процессов функционирования.

Таким образом, однократное воздействие ОУ проявлялось стойким пролонгированным эффектом независимо от тканевой организации органов, что предполагает радиотоксический характер поражения, являющийся важным диагностическим критерием к выявлению донозологических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабеева А. Г.* Регенерация: факты и перспективы. М.: Издательство РАМН, 2009.
2. *Воронцова З. А., Набродов Г. М., Кособуцкая С. А., Селявин С. С.* Полиорганный эффект обедненного урана в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т. 20, № 2. С. 397–398.
3. *Воронцова З. А., Никитюк Д. Б., Кудеева Э. Ф.* Аналитический подход морфоклинической интерпретации системы крови после инкорпорирования радионуклидов (краткий обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. 2017. Т. 24, № 1. С. 191–202.
4. *Воронцова З. А., Никитюк Д. Б., Селявин С. С., Минасян В. В.* Обзорная характеристика биоэффектов обедненного урана в клинко-морфологических исследованиях // Вестник новых медицинских технологий. 2016. Т. 23, № 2. С. 250–255.

5. *Поленов А. Л.* Морфофункциональная организация нейросекреторных клеток гипоталамуса // *Нейроэндокринология*. Ч. 1. СПб.: РАН, 1993. С. 31–70.
6. *Соколова М. Г.* Исследование активности антиапоптотического белка у детей, больных детским церебральным параличом // *Медицина и фармакология: электронный научный журнал*. 2015. № 3 (16) URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/1996>.
7. *Durakovic A.* Medical effects of internal contamination with actinides: further controversy on depleted uranium and radioactive warfare // *Environmental Health and Preventive Medicine*. 2016. Vol. 21, issue 3. P. 111–117.

Гайворонский И. В., Пащенко П. С., Ничипорук Г. И., Фандеева О. М., Семенова А. А., Кириллова М. П., Кузьмина И. Н., Конкина Н. И.

РОЛЬ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СОВРЕМЕННЫХ НАУЧНЫХ ТРУДАХ КАФЕДРЫ НОРМАЛЬНОЙ АНАТОМИИ ВМедА

*Кафедра нормальной анатомии (заведующий – проф. И. В. Гайворонский)
Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург,
e-mail: nichiporuki120@mail.ru*

Несмотря на то, что основным объектом исследования нормальной анатомии является орган, система органов и организм человека в целом, современная анатомия является макромикроскопической. Эпоха описательной анатомии завершилась в начале XX века. Практически в каждой научно-исследовательской работе кафедры нормальной анатомии используются гистологические и гистохимические методики. Многоуровневый морфофункциональный методологический подход дал возможность решать научные и научно-практические задачи в исследовательской работе кафедры нормальной анатомии.

Выполненные научные исследования целесообразно рассмотреть с позиций разрабатываемых проблем:

- проблема коллатерального кровообращения;
- проблема воздействия на организм экстремальных факторов;
- прикладные научные исследования в анатомии.

Первые исследования с применением гистохимических и цитохимических методов были проведены в 60–70-е годы прошлого столетия на базе гистологической лаборатории, руководимой доцентом Л. П. Тихоновой. Эти работы были посвящены преимущественно состоянию структур вегетативной нервной системы при воздействии на организм экстремальных факторов в эксперименте.

Крупномасштабное традиционное направление кафедры – проблема коллатерального кровообращения – получило свое дальнейшее развитие благодаря использованию комплекса гистологических, гистохимических и электронно-микроскопической методик. Профессором И. В. Гайворонским и его учениками продемонстрировано развитие коллатералей после перевязки крупных сосудов