

строения отсутствие базальной мембраны по частоте преобладало над нарушением её целостности. В инвазивных скirrosных раках фрагменты базальной мембраны определялись лишь в отдельных участках опухоли.

Экспрессия виментина в неинвазивном варианте наблюдалась лишь в одном случае (16,7%). Наиболее выраженная экспрессия отмечалась в скirrosных раках (85%). Умеренно выраженная и выраженная экспрессия VEGF определялась во всех наблюдениях неинвазивного, инвазивного рака солидного строения. В скirrosных раках экспрессия была минимальной и определялась в 15,4% случаев.

Таким образом, для раков молочной железы характерна выраженная топографическая и количественная зависимость экспрессии иммуногистохимических маркеров от форм роста, уровня дифференцировки, этапа прогрессии опухоли с нередкой топографией миофибробластных маркеров (актин, виментин) в паренхиме и строме. Для неинвазивных раков характерна постоянная выраженная экспрессия коллагена IV типа с сохранением целостности и непрерывности базальных мембран, слабовыраженная экспрессия виментина, актина, VEGF. В инвазивных РМЖ экспрессия коллагена IV типа значительно снижается, что коррелирует с нарушением целостности базальной мембраны и нарастанием фибропластических изменений. Выраженные десмопластические изменения в скirrosных раках характеризуются максимально выраженной экспрессией актина и виментина, минимальной экспрессией VEGF. Полученные результаты имеют существенное значение для дальнейшего изучения паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в раках молочной железы и оценке их биологического, диагностического и прогностического значения.

## **Необходимость морфологического исследования в протоколе доклинического этапа разработки новых методов в регенеративной медицине костей и суставов**

*Новоцадов В.В.*

Волгоградский государственный университет, г. Волгоград, РФ

Восстановление поврежденных и утративших свою функцию элементов скелетных тканей является одной из наиболее востребованной и энергично развивающейся областей регенеративной медицины. Рост потребности в восстановительных операциях на опорных тканях, равно как и революция в биомедицинских технологиях определяют высокую интенсивность экспериментального исследования новых методов для восстановления костной и хрящевой тканей. Наиболее часто речь идет об имплантации биосовместимых неудаляемых металлоконструкций, натуральных,

(иногда – в сочетании с TUNEL-методиками) исследований регенерата после имплантации на разных сроках эксперимента. Дополнительной проблемой становится изучение остеоинтеграции, поскольку высокопрочный имплантат с биоактивной поверхностью как раз ввиду придаваемых ему свойств, обязан неотделимо интегрироваться с окружающими тканями. Ближайшая «зона интереса» на 70–80 мкм погружена в поры импланта, на 100–150 мкм окружает его, и они неотвратно разрушаются при попытке изготовления микропрепарата. Специальные микротомы для таких целей пока недоступны большинству российских исследователей.

Протокол доклинического исследования включает достаточное количество разнородных испытаний с помощью высокоточных методов: рентгеноденситометрию, магнитно-резонансную томографию, микротомографию, аппаратные методы исследования прочности и других физических свойств конструкций, и окружающих тканей, биохимические, ПЦР и иммунологические исследования крови, и других биологических жидкостей (особенно – синовиальной). Потому необходимо построить определенные таблицы соответствия между морфологическими изменениями и результатами этих исследований. На конкретных примерах нами показаны такие соответствия между рентгеноденситометрией и строением регенерата в случае использования фактора роста BMP-2 для остеоинтеграции титановых имплантатов, между результатами прочностно-сдвиговых испытаний и морфологией регенерата при ряде испытаний дентальных имплантатов, биохимического анализа и морфологии – при использовании современных костнопластических масс для закрытия объемных дефектов кости. Математические доказательства взаимосвязи между отдельными показателями морфологического, рентгеноденситометрического и механического аппаратного исследования получены, и обсуждаются в докладе.

Отдельное внимание уделено исследованию состава и свойств синовиальной жидкости и взаимодополняющему эффекту от сочетания этого исследования и морфологического анализа суставного хряща.

В итоге для обсуждения предлагается рабочий объем морфологического исследования в составе общего протокола изучения нового материала для регенеративной медицины костей и суставов, зависящий от этапа работы (экспериментальное обоснование технологии или доклинические испытания), характера вмешательства (замещение дефектов хряща или кости) и материалов (биомиметичные замещаемые материалы или неудаляемые конструкции). Предусмотрены варианты обработки динамических количественных данных, а также изучение тканевого распределения свойств. Предложены приемлемые варианты сочетаний морфологического и биохимического анализов по срокам и объему используемого материала.

лекарственных и диагностических агентов, конъюгированных с наночастицами) путями. Контакт человека с наноматериалами может происходить на этапе разработки, производства, использования и переработки.

Исследования острой системной токсичности наночастиц немногочисленны. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что большинство наноматериалов могут быть отнесены к разряду умеренно токсичных и малотоксичных по классификации 50 этих веществ колеблется от 50 до 5000 мг/кг. Интересным является тот факт, что органы-мишени для большинства наночастиц входят в состав ретикуло-эндотелиальной системы. Поскольку наночастицы, используемые в биомедицинских целях, зачастую покрывают биосовместимыми покрытиями, затрудняющими их распознавание и поглощение фагоцитами, органы-мишени для таких частиц могут быть иными. В частности, важную роль в элиминации такого рода наночастиц могут играть почки.

Использование наночастиц, а также наноструктурированных порошков, паст находит все более широкое практическое применение в медицине, химии, биологии, в частности, как источники микроэлементов. Однако имеются работы, в которых использование наночастиц несет не только несомненные преимущества, но и потенциальную опасность вредного воздействия на здоровье человека и природные экосистемы. В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение с помощью современных морфологических методов исследование морфофункциональные особенности патогенеза и морфогенеза макроорганизма при проникновении наночастиц железа.

Для последующего эксперимента животные были разделены на 3 групп: животные, которым были введены наночастицы железа на кожу (12 особей), крысы, которым были введены наночастицы железа внутриназально на кожу (12 особей), контрольной группы (10). Для уточнения вещества, вводимого животным, была проведена трансмиссионная электронная микроскопия и сканирующая электронная микроскопия с применением макро- и микроэлементного анализа.

Крысы находились в эксперименте в течение месяца. Проведено изучение шерсти и кожи животных, а также головного мозга (коры), трахеи, гортани, легких, сердца, печени, почек. Проведено макроскопическое описание. Срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, изучали в световом микроскопе. Для растровой электронной микроскопии пробы фиксировали в стандартном глутаровом фиксаторе, а затем фотографировали и проводили морфометрическую оценку. Для атомно-силовой микроскопии образцы исследовали и выполняли морфометрический анализ на сканирующем зондовом микроскопе. Для трансмиссионной электронной микроскопии пробы заливали в смесь эпон-аралдит, *просматривали и фотографировали в электронном микроскопе.*

оболочки, представленная рыхлой волокнистой соединительной тканью, содержала многочисленные эластические волокна, не имеющие определенной ориентировки. В глубоких слоях слизистой оболочки эластические волокна постепенно переходили в надхрящницу, а в средней части гортани проникают между поперечнополосатыми мышцами голосовых связок. Фиброзно-хрящевая оболочка гортани, состоящая из гиалиновых и эластических хрящей, окруженных плотной волокнистой соединительной тканью была не изменена. Адвентициальная оболочка состояла из коллагеновой соединительной ткани.

Слизистая оболочка трахеи при помощи тонкой подслизистой основы была связана с фиброзно-хрящевой оболочкой трахеи. Она выстлана многослойным призматическим реснитчатым эпителием, в котором различают реснитчатые, бокаловидные, эндокринные и базальные клетки. Реснитчатые клетки призматической формы. Под базальной мембраной эпителия располагался неизменный слой собственной пластинки слизистой оболочки, который состоял из рыхлой волокнистой соединительной ткани, богатой эластическими волокнами. Подслизистая основа трахеи состояла из рыхлой волокнистой соединительной ткани, без резкой границы переходящей в плотную волокнистую соединительную ткань надхрящницы незамкнутых хрящевых колец. Адвентициальная оболочка трахеи состояла из рыхлой волокнистой соединительной ткани, которая соединяет этот орган с прилежащими частями средостения и также была не изменена.

Через семь – тридцать дней после введения наночастиц животных видно, что в просвете части центральных вен определялись циркуляторные изменения в виде их обтурации. В периваскулярном пространстве наблюдался отек. Здесь же выявлены единичные лимфоциты. Перисинуоидальное пространство расширено. В части гепатоцитов признаки жировой и белковой дистрофии.

При изучении почечной ткани животных через неделю после нозального введения наночастиц железа на макроскопическом уровне изменений выявлено не было. Микроскопически обращал на себя внимание факт умеренного полнокровия капилляров коркового и мозгового слоев с фрагментарным тромбозом. Помимо этого, в некоторых клетках проксимальных и дистальных канальцев выявлено фрагментарное нарушение строения плазмолеммы. Как в дистальных канальцах, так и в собирательных трубках наблюдались клетки с участками с деструкцией клеток в виде паренхиматозной белковой дистрофии. В сердце макроскопически через семь – тридцать дней Микроскопическая картина сердечной мышцы представляла собой миокард, который образован анастомозирующими сердечными мышечными волокнами с эндомизием между ними, который содержит многочисленные капилляры. Миоциты прочно соединены конец к концу, так что

соответствующего возраста, смерть которых наступила на месте происшествия от различных травм, за исключением черепно-мозговой. Результаты данного вычисления были опубликованы ранее [2]. Определение корреляции между названными отделами ГНС проведено с использованием программы «Biostat».

Проведенное исследование показало, что острый инфаркт миокарда протекает с нарушением корреляции между показателями функционального состояния (СОК) органов ГНС (табл.). Происходит ослабление корреляции АЯ, относящегося к гипофизотропной области гипоталамуса, со всеми отделами ГНС, за исключением эозинофилов гипофиза и аденоцитов сетчатой зоны надпочечников. Корреляция нейросекреторных СОЯ и ПВЯ характеризуется ослаблением связи между собой, а также с ЗГЯ и аденогипофизом. По отношению к надпочечникам корреляция нейросекреторных ядер различна. СОЯ сохраняют неизменённой корреляцию с клубочковой

Таблица

Степень корреляции между СОК нейроцитов гипоталамических ядер, аденоцитов гипофиза и надпочечников при остром инфаркте миокарда (в числителе показатель в основной группе наблюдений, в знаменателе – в контрольной)

	СОК АЯ	СОК СОЯ	СОК ПВЯ	СОК ЗГЯ	СОК баз	СОК эоз	СОК клуб.з	СОК пучк.з	СОК сетч.з
СОК СОЯ	0,35								
СОК ПВЯ	0,45 0,46	0,64							
СОК ЗГЯ	0,65 0,4	0,92 0,36	0,58						
СОК баз.	0,8 0,13	0,7 -0,19	0,64 0,04	0,32					
СОК эоз.	0,82 0,39	0,34 0,19	0,25 -0,01	0,69 -0,19	0,6				
СОК клуб.з.	-0,1 0,55	-0,04 0,76	0,04 0,8	0,5 0,21	0,71 0,14	0,51			
СОК пучк.з.	0,7 0,31	0,77 0,87	0,17 0,29	0,92 -0,04	0,72 -0,2	0,48 0,42	0,83		
СОК сетч.з.	0,47 0,63	0,83 0,49	0,7 0,57	0,63 0,29	0,17 0,59	-0,04 0,81	0,75 0,83	0,48	
СОК мозг.в-ва	-0,05 0,28	-0,25 0,24	-0,08 -0,39	0,37 0,29	0,46 0,55	0,73 0,92	0,58 0,35	0,3 0,53	0,73
	0,73	0,75	0,72	0,91	0,63	0,4	0,96	0,7	0,55