

в отношении *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae in vitro* и *in vivo*.

2. Аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол и N-ацетилцистеин в дозе 80 мг/кг не уменьшают нефротоксичность гентамицина в условиях бактериального перитонита крыс, вызванного *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*.

3. Применение антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, метилэтилпиридинола, N-ацетилцистеина) в условиях терапии гентамицином не только нерационально, но и противопоказано.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика*. Справочник. В 2 т. 2-е изд. Мн.: Интерпрессервис. 2003; 2: 463 с. [Kamyshnikov V.S. *Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika*. Clinical and biochemical laboratory diagnostics. Reference book. In 2 vols. 2nd ed. Minsk: Interpresservis. 2003; 2: 463 p. (In Russ.)]

2. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. Учебное пособие для биологических специальных вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа. 1990; 352 с. [Lakin G.F. *Biometriya*. (Biometry.) Textbook for biological special higher education institutions. 4th ed., revised and enlarged. Moscow: Vysshaya shkola. 1990; 352 p. (In Russ.)]

3. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 2005; 832 с. [*Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. (Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances.) Ed. by R.U. Khabriev. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: Meditsina. 2005; 832 p. (In Russ.)]

4. Ali B.H. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem. Toxicol.* 2003; 41: 1447–1452.

5. Banday A.A., Farooq N., Priyamvada S. et al. Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues. *Life Sci.* 2008; 82: 450–459.

6. Ben Ismail T.H., Ali B.H., Bashir A.A. Influence of iron, deferoxamine and ascorbic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Gen. Pharmacol.* 1994; 25 (6): 1249–1252.

7. Cachofeiro V., Goicochea M., de Vinuesa S.G. et al. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2008; suppl.: S4–S9.

8. De la Cruz Rodríguez L.C., Araujo C.R., Posleman S.E. et al. Attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity: trimetazidine versus N-acetyl cysteine. *J. Appl. Toxicol.* 2010; 30 (4): 343–353.

9. Hanaa M., El-Fattah A., El-Sheikh N.M. Evaluation of chemoprotective role of N-acetylcysteine and vitamin E on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Australian J. Basic Applied Sci.* 2012; 6 (3): 263–270.

10. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* 2007; 130: 797–810.

11. Koyner J.L., Sher Ali R., Murray P.T. Antioxidants. Do they have a place in the prevention or therapy of acute kidney injury? *Nephron Exp. Nephrol.* 2008; 109: e109–e117.

12. Morales A.I., Demaille D., Prieto M. et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney Int.* 2010; 77: 861–869.

13. Selby N.M., Shaw S., Woodier N. et al. Gentamicin-associated acute kidney injury. *QJ. Med.* 2009; 102: 873–880.

14. Stojiljkovic N., Stoiljkovic M., Randjelovic P. et al. Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2012; 64 (1–2): 69–74.

УДК 612.084: 612.438: 615.277.3

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ КРЫС РЕПРОДУКТИВНОГО ПЕРИОДА НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ИММУНОДЕПРЕССАНТА ЦИКЛОФОСФАМИДА

Инеcса Венидиктовна Бобрышева\*

Луганский государственный медицинский университет, г. Луганск, Украина

Поступила 29.02.2016; принята в печать 29.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/КМЖ2016-578

**Цель.** Изучить особенности морфологических преобразований вилочковой железы (тимуса) крыс репродуктивного периода на фоне введения иммунодепрессанта циклофосфамида.

**Методы.** Препараты тимуса изучали с помощью анализатора изображений на базе микроскопа Olympus CX-41. В морфофункциональных зонах тимуса определяли относительную площадь (в процентах), занимаемую субкапсулярной, внутренней кортикальной зонами коркового вещества и мозговым веществом долек; плотность расположения клеток, процентное содержание клеточных элементов: лимфобластов, малых, средних и больших лимфоцитов, макрофагов, митотически делящихся, деструктивно изменённых клеток, эпителиоретикулоцитов.

**Результаты.** Установлено статистически значимое уменьшение относительной площади субкапсулярной и внутренней кортикальной зон коркового вещества, а также увеличение данного показателя в мозговом веществе тимической паренхимы через 1–30 сут после введения циклофосфамида. Плотность расположения клеток снижается как в корковом, так и в мозговом веществе. Изменяется цитоархитектоника морфофункциональных

зон вилочковой железы: происходит снижение относительного содержания лимфоцитов, преимущественно молодых форм, а также повышение процентного содержания макрофагов и деструктивно изменённых клеток. Максимальные отклонения изученных параметров зарегистрированы через 1 и 7 сут после введения препарата. Через 60 сут после введения цитостатика морфометрические характеристики морфофункциональных зон тимуса у подопытных крыс не имеют достоверных отличий от данных контрольных животных соответствующего возраста.

**Вывод.** Однократное введение циклофосфида приводит к острой инволюции тимуса, выражающейся в уменьшении относительной площади коркового вещества, деформации долек, жировом перерождении органа, снижении относительного содержания лимфоцитов, повышении процентного содержания макрофагов и деструктивно изменённых клеток, что может свидетельствовать о высокой степени реактивности тимуса животных; результаты исследования могут служить морфологическим подтверждением повреждающего действия циклофосфида на лимфоидную ткань тимуса.

**Ключевые слова:** крысы, тимус, циклофосфамид.

#### MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE THYMUS OF RATS OF REPRODUCTIVE PERIOD ON THE BACKGROUND OF THE IMMUNOSUPPRESSANT CYCLOPHOSPHAMIDE ADMINISTRATION

*I.V. Bobrysheva*

*Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine*

**Aim.** To study the features of morphological changes of the thymus gland (thymus) of reproductive period rats amid the administration of the immunosuppressant cyclophosphamide.

**Methods.** Thymus preparations were studied using an image analyzer based on CX-41 Olympus microscope. The morphological and functional areas of the thymus were determined relative areas (as a percentage) occupied by subcapsular, inner cortical zones of the cortex and thymic lobules medulla; cells distribution density, the percentage of cellular elements: lymphoblasts, small, medium and large lymphocytes, macrophages, mitotically dividing, destructively altered cells epithelioreticulocytes.

**Results.** A statistically significant reduction in the relative area of subcapsular and inner cortical zones of the cortex, as well as an increase in this parameter in the thymic medullary parenchyma after 1–30 days after administration of cyclophosphamide were found. The cell density is reduced both in the cortex and in the medulla. Cytoarchitectonics of the thymus morphological and functional zones changes: a decrease in relative content of lymphocytes, mainly of young forms, as well as increase in the percentage of macrophages and destructively altered cells occurred. Maximum deviations of studied parameters was recorded after 1 and 7 days after drug administration. In 60 days after cytostatic administration morphometric characteristics of the thymus morphological and functional zones in laboratory rats do not have significant differences from the parameters in control animals of appropriate age.

**Conclusion.** A single administration of cyclophosphamide leads to acute thymic involution, which is manifested in a decrease in the relative area of the cortex, lobules deformation, organ fatty degeneration, decrease in the relative content of lymphocytes, increase in the percentage of macrophages and destructively modified cells, which may be indicative of a high degree of reactivity of the animals thymus; results of the study may serve as morphologic evidence of the damaging effect of cyclophosphamide on the thymus lymphoid tissue.

**Keywords:** rats, thymus, cyclophosphamide.

Иммунная система обладает уникальными защитными механизмами, обеспечивающими гомеостаз организма [10]. Ведущая роль в этих процессах принадлежит вилочковой железе (тимусу), которая во многом определяет не только состояние периферических органов иммуногенеза, но и выраженность защитных реакций всего организма. Вместе с тем, тимус активно реагирует на экзогенные и эндогенные воздействия, что проявляется изменениями в его строении и функциях [6, 11].

Для лечения злокачественных опухолей, аутоиммунных заболеваний, в трансплантологии возникает необходимость проведения иммуносупрессивной терапии [1, 2], оказывающей негативное воздействие на различные органы и ткани, в частности на органы иммунной системы [8].

Циклофосфамид — цитостатический препарат, который широко применяют при лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний [12, 13], используют для профилактики отторжения трансплантатов. Вместе с тем он обладает большим количеством побочных

эффектов, особенно в отношении клеток с высокой митотической активностью [7].

Несмотря на то обстоятельство, что исследования ряда авторов посвящены изучению строения органов иммунной системы при действии различных иммунотропных препаратов [6, 14], данные о строении тимуса белых крыс при экспериментальной иммуносупрессии представлены лишь в единичных публикациях [5, 6].

Всестороннее исследование влияния иммунотропных препаратов на органы иммунной системы, особенно на тканевом уровне, необходимо для целенаправленного воздействия на нарушенные гистологические процессы, что в свою очередь является обязательным условием успешной иммунокоррекции и иммунореабилитации [8]. В свете этого детальное исследование морфофункционального состояния вилочковой железы при иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом, представляет большой интерес как для практической медицины, так и для гистологии, иммунологии и иммуноморфологии.

Цель исследования — изучить особенности морфологических преобразований тимуса крыс репродуктивного периода на фоне введения иммунодепрессанта циклофосфамида.

Эксперимент выполнен в сертифицированной гистологической лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Исследование проведено на 60 белых беспородных крысах-самцах репродуктивного периода (исходная массой тела животных 130–150 г, возраст 4 мес), полученных из вивария лабораторных животных университета.

Иммуносупрессивное состояние у животных моделировали путём введения цитостатического препарата циклофосфамида (циклофосфана). Использовали «Циклофосфан-КМП» («Cyclophosphanum-KMP») производства ОАО «Киевмедпрепарат», серии П.07.02/05082. Препарат вводили животным в дозе, приводящей к иммунной депрессии (200 мг/кг массы тела животного) однократно внутримышечно на изотоническом растворе натрия хлорида. Данная модель создания иммунодефицита широко апробирована при проведении иммунологических экспериментальных исследований [5–8].

Контролем служили крысы, получавшие 0,9% раствор натрия хлорида в эквивалентном объёме.

Выведение животных из эксперимента осуществляли через 1, 7, 15, 30 и 60 сут после введения препарата путём декапитации под эфирным наркозом [4]. Эксперимент выполнен с соблюдением правил биоэтики, утверждённых Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), и одобрен комиссией по вопросам биоэтики ГУ «Луганский государственный медицинский университет» (протокол №1 от 19.01.2013).

Объектом исследования служил тимус. Забор, фиксацию материала и изготовление парафиновых блоков выполняли согласно общепринятым методикам работы с лимфоидными органами [3]. Для изучения структурных компонентов тимуса парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, для идентификации клеток использовали окраску азуром II-эозином [3].

Детали гистологического строения изучали с помощью аппаратно-программно-

го комплекса, включающего микроскоп Olympus CX-41 и цифровой фотоаппарат Olympus SP 500UZ с использованием компьютерной программы «Morpholog» [9]. Определяли относительную площадь (в процентах), занимаемую субкапсулярной, внутренней кортикальной зонами коркового вещества и мозговым веществом долек. Кроме того, определяли плотность расположения клеток, в том числе лимфоцитов и эпителиоретикулоцитов, на стандартной площади (10 000 мкм<sup>2</sup>) морфофункциональных зон долек тимуса.

Вычисляли лимфоэпителиальное отношение, представляющее собой отношение количества лимфоцитов к количеству эпителиоретикулоцитов на единице площади. Определяли процентное содержание клеточных элементов: лимфобластов, малых, средних и больших лимфоцитов, макрофагов, митотически делящихся, деструктивно изменённых клеток, эпителиоретикулоцитов в морфофункциональных зонах тимуса. Производили подсчёт изучаемых структур на шести полях зрения каждого среза, анализировали шесть срезов с каждого объекта.

Статистическую обработку данных осуществляли методом вариационной статистики с применением *t*-критерия Стьюдента. Результаты обработаны при помощи пакета программ Statistica 6.0. Достоверными считали данные с уровнем  $\alpha$ -ошибки менее 5% ( $p < 0,05$ ). Результаты представляли в виде среднего арифметического значения (*M*) и ошибки среднего (*m*).

Исследование вилочковой железы контрольных животных выявило расширение междольковых соединительнотканых септ, частичное замещение паренхимы жировой тканью, что можно расценить как начальные проявления возрастной инволюции железы.

После введения циклофосфамида на протяжении всего периода наблюдения тимус животных репродуктивного периода сохраняет основные морфологические черты. Вместе с тем воздействие препарата приводит к выраженным изменениям цитоархитектоники тимуса на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения. Дольки приобретают неправильную полигональную или полулунную форму, имеют меньшие размеры, чем у контрольных крыс. Граница между корковым и мозговым веществом выражена нечётко. Наблюдается инверсия окрашивания слоёв тимических долек. Встречаются дольки с участками, замещёнными жировой тканью.

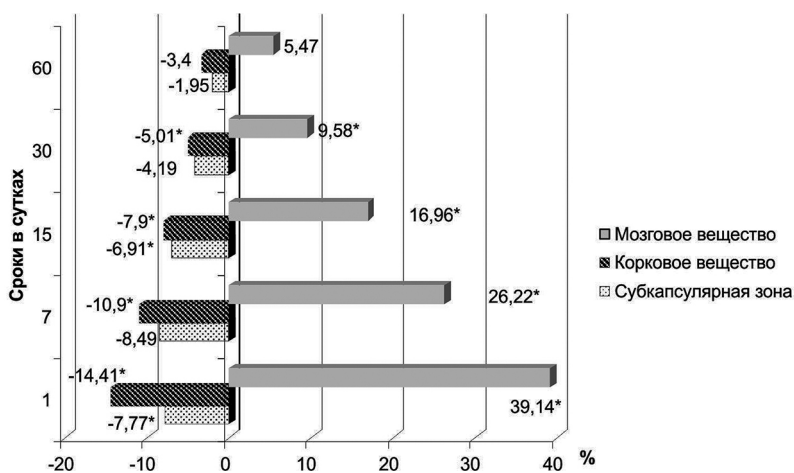


Рис. 1. Средняя динамика площади сечения морфофункциональных зон тимуса крыс репродуктивного периода после введения циклофосфамида в разные сроки наблюдения (n=60); \*статистическая значимость разницы с показателями контрольной группы (p < 0,05); n — количество наблюдений

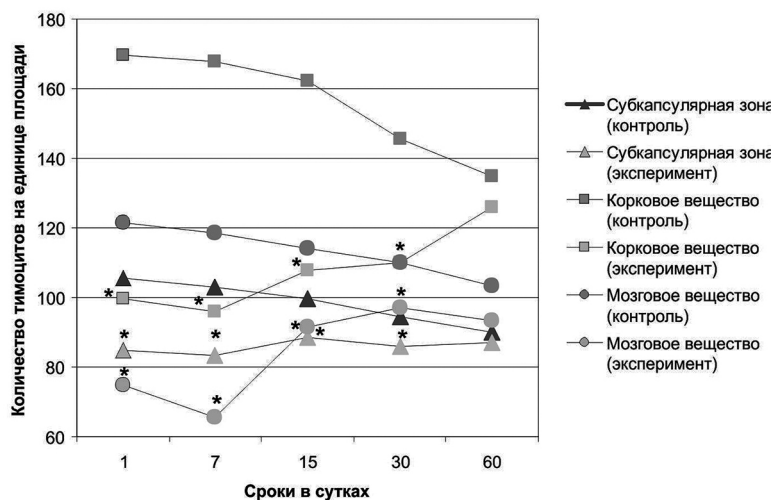


Рис. 2. Динамика плотности расположения тимоцитов в морфофункциональных зонах тимуса крыс репродуктивного периода в контроле и после введения циклофосфамида в разные сроки наблюдения (M; n=60); \*статистическая значимость различий с показателями контрольной группы (p < 0,05); n — количество наблюдений

Наиболее выраженные изменения определяются через 1 и 7 сут после применения цитостатика. Однако через 2 мес гистологическое строение тимуса у крыс с введением циклофосфамида не имеет видимых отличий от такового у животных контрольных групп.

С помощью морфометрического исследования установлены существенные изменения относительной площади субкапсулярной, внутренней кортикальной зон коркового вещества и мозгового вещества тимической паренхимы подопытных животных. Относительная площадь субкапсулярной и внутренней кортикальной зон уменьшается, а мозгового вещества — увеличивается на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки после введения циклофосфамида (p < 0,05; рис. 1).

Численная плотность клеток в корковом и мозговом веществе долек тимуса животных, получавших циклофосфамид, снижается по сравнению с контролем на 1–30-е сутки наблюдения. Так, в субкапсулярной зоне плотность расположения клеток уменьшается на 19,2; 17,62; 10,12 и 8,0% соответственно 1-м, 7-м, 15-м и 30-м суткам наблюдения (p < 0,05 при сравнении с контрольной группой для всех сроков наблюдения).

Количество тимоцитов на единице площади препарата меньше по сравнению с контролем в те же сроки наблюдения на 19,88; 18,91; 10,99 и 9,06% (рис. 2), а эпителиоретикулоцитов — на 15,34% (1-е сутки), 10,51% (7-е сутки) и 5,45% (15-е сутки) (p < 0,05 при сравнении с контрольной группой).

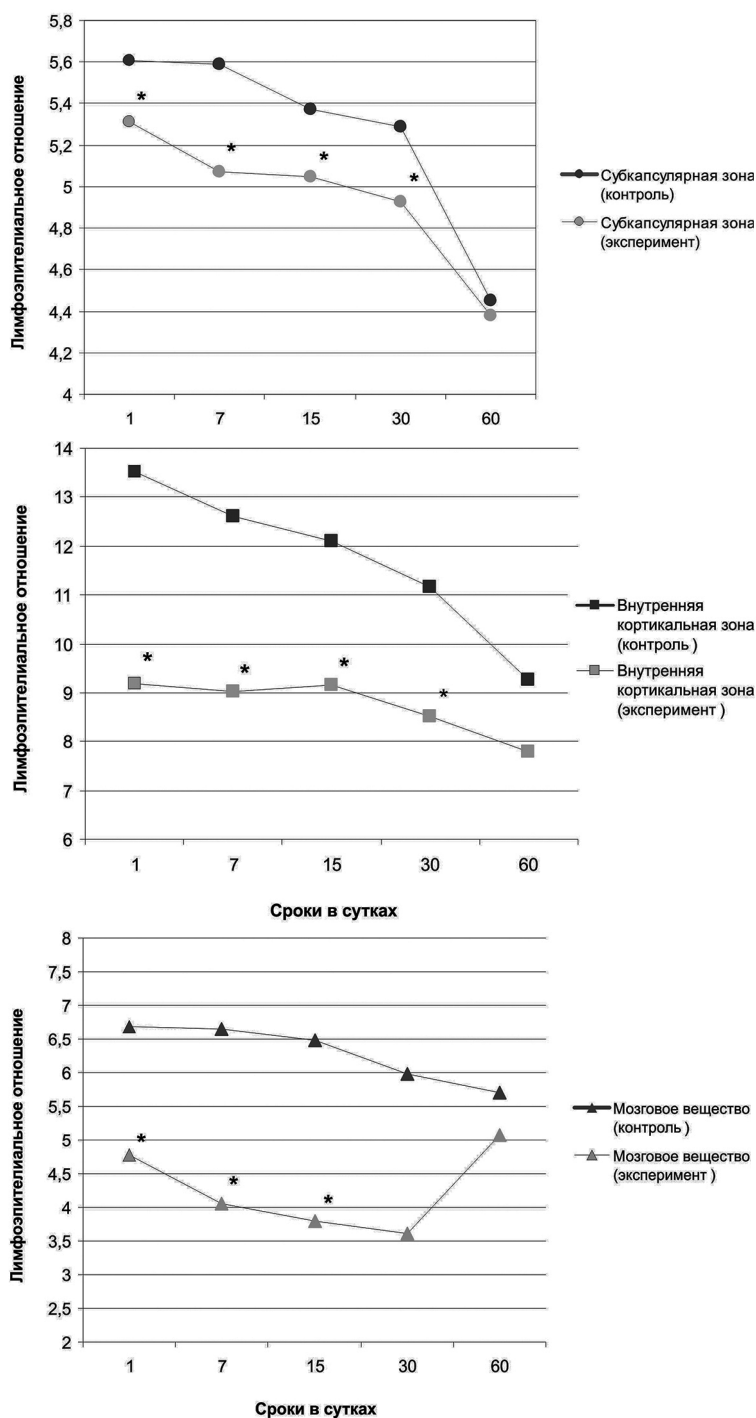


Рис. 3. Динамика изменения лимфоэпителиального индекса в морфофункциональных зонах тимуса крыс репродуктивного периода в контроле и после введения циклофосфида в разные сроки наблюдения (M; n=60); \*статистическая значимость различий с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ); n — количество наблюдений

пой для всех сроков наблюдения).

Лимфоэпителиальный индекс снижен относительно контрольных показателей на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки на 5,35; 9,3; 5,96 и 6,81% (рис. 3).

Динамика общего количества клеток, тимоцитов и эпителиоретикулоцитов на единице площади внутренней кортикальной зоны аналогична таковой в субкапсулярной зоне. Различия между показателями плот-

ности расположения клеток подопытных и контрольных животных составляют 39,42; 41,0; 31,25 и 22,57% соответственно на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения.

Численная плотность тимоцитов по сравнению с контролем снижена в те же сроки наблюдения на 41,32; 42,86; 33,66 и 24,51% (см. рис. 2), эпителиоретикулоцитов — на 13,78% (1-е сутки), 17,55% (7-е сутки) и 2,09% (15-е сутки). Лимфоэпителиальный индекс был ниже контрольных показателей на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки на 31,98\*; 30,71\*; 32,23\* и 23,75%\* соответственно (см. рис. 3).

В мозговом веществе в сравнении с контролем на 1-е, 7-е и 15-е сутки после введения циклофосфида показатель общего количества клеток на единице площади у подопытных животных был меньше показателей контрольной группы на 35,26; 40,14 и 12,3%. Различия между показателем численной плотности тимоцитов у животных экспериментальной и контрольной групп выявлены через 1, 7, 15 и 30 сут после введения цитостатика. Разница составляет 38,42; 44,46; 19,9 и 11,8% соответственно срокам наблюдения (см. рис. 2). Лимфоэпителиальный индекс снижен в аналогичные сроки на 28,44; 38,86; 41,60 и 39,73% по сравнению с показателями контрольной группы (см. рис. 3).

При изучении цитоархитектоники тимических долек экспериментальных животных также отмечены определённые изменения их клеточного состава. В субкапсулярной зоне в сравнении с контролем на 1–30-е сутки наблюдения зарегистрировано снижение относительного содержания лимфоцитов, преимущественно молодых форм. Процентное содержание лимфобластов в сравнении с контрольной группой снижается через 1, 7, 15 и 30 сут после введения цитостатика на 24,85; 25,08; 21,05 и 13,87%, больших лимфоцитов — на 32,0; 29,82; 25,08 и 18,06%.

Вместе с тем отмечается повышение процентного содержания макрофагов на 33,94; 34,42; 48,65 и 17,86% на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения. По сравнению с контрольными данными статистически значимо возрастает содержание деструктивно изменённых клеток — на 28,10% (1-е сутки), 32,20% (7-е сутки), 37,62% (15-е сутки) и 20,98% (30-е сутки). Митотически делящиеся клетки практически не встречаются.

Относительное содержание эпителиоретикулоцитов выше контрольных показате-

телей на 45,48; 47,64; 42,51 и 35,87% на 1-е, 7-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения. На 60-е сутки после введения препарата этот показатель отличается от такового в группе контрольных животных на 11,05% (разница показателей групп не имеет статистической значимости).

Лимфоцитарная популяция внутренней кортикальной зоны представлена в основном средними и малыми лимфоцитами. Несмотря на уменьшение содержания клеточных элементов в корковом веществе после введения животным циклофосфида, самым представительным классом клеток являются малые лимфоциты. Их относительное содержание уменьшается в течение 1-х, 7-х, 15-х и 30-х суток наблюдения на 32,01; 29,0; 20,68 и 12,0% соответственно. Уменьшено содержание и средних лимфоцитов: показатели отстают от контрольных на 13,06; 11,7; 8,09 и 7,01% через 1, 7, 15 и 30 сут наблюдения.

В значительной степени возрастает количество макрофагов и эпителиоретикулоцитов. Их содержание на протяжении всего периода наблюдения превышает данные контрольной группы животных в несколько раз. В сравнении с контролем возрастает и относительное содержание клеток с признаками деструкции.

Изменение клеточного состава мозгового вещества после введения животным цитостатика проявляется снижением относительного содержания малых лимфоцитов с некоторым увеличением процента средних форм клеток. Содержание малых лимфоцитов по сравнению с контрольными значениями уменьшается на 20,06; 14,6; 10,4 и 7,5% через 1, 7, 15 и 30 сут наблюдения.

Об усилении фагоцитарной активности свидетельствует увеличение количества макрофагов. Так, на 1-е сутки их количество превышает контрольные значения на 14,47%, на 7-е сутки — на 11,75%, на 15-е — на 8,14%, а к 30-м суткам этот показатель отличается от контроля всего на 6,00%. Митотически делящиеся клетки встречаются редко. Значительно повышается содержание клеток с признаками деструктивных изменений.

Через 60 сут после введения препарата морфометрические характеристики морфофункциональных зон вилочковой железы у подопытных крыс не имеют достоверных отличий от данных контрольных животных соответствующего возраста.

Полученные результаты могут свиде-

тельствовать о высокой степени реактивности тимуса животных репродуктивного периода после иммуносупрессии, что проявляется изменением изученных морфометрических параметров по сравнению с контрольными данными в ранние сроки наблюдения (1–30-е сутки), тогда как через более длительный промежуток времени (60 сут) различия между сравниваемыми параметрами нивелируются. Подобная динамика морфологических изменений указывает на развитие акцидентальной инволюции тимуса, которая ускоряет инволютивные процессы.

Вероятно, имеет место токсическое влияние циклофосамида на костный мозг, обуславливающее нарушение поступления клеток-предшественников в тимус и, как следствие, относительное уменьшение числа лимфоцитов, преимущественно молодых форм, а также увеличение относительного содержания макрофагов, деструктивно изменённых и митотически делящихся клеток.

Кроме того, подобные изменения могут быть обусловлены подавлением пролиферативной активности лимфоцитов, их массовым выбросом в периферическое русло и частичным цитолитическим эффектом циклофосамида.

## ВЫВОДЫ

1. Опираясь на полученные экспериментальные данные, можно заключить, что однократное введение циклофосамида в дозе 200 мг/кг приводит к острой инволюции тимуса, выражающейся в уменьшении относительной площади коркового вещества, деформации долек, жировом перерождении органа, снижении относительного содержания лимфоцитов, преимущественно молодых форм, а также повышении процентного содержания макрофагов и деструктивно изменённых клеток.

2. Статистически значимое изменение показателей животных экспериментальной группы относительно контрольных данных установлено на 1–30-е сутки наблюдения. Максимальные отклонения изученных параметров зарегистрированы через 1 и 7 сут после введения препарата. Через 60 сут после введения цитостатика морфометрические характеристики морфофункциональных зон тимуса у подопытных крыс не имеют достоверных отличий от данных контрольных животных.

3. Результаты исследования могут слу-

жить морфологическим подтверждением повреждающего действия циклофосамида (циклофосфана) на лимфоидную ткань тимуса. Полученные данные расширяют представления об адаптационных возможностях тимуса при иммуносупрессивном воздействии на организм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарчук А.О. Морфологические аспекты протекторного влияния бензофуорокаина на структуру тощей кишки крыс, изменённую циклофосамидом, в отдалённые сроки. *Ж. анатом. и гистопатол.* 2013; 2 (2): 51–55. [Bondarchuk A.O. Morphological aspects of protective influence of benzofurokainum on the structure of rats jejunum, changed by cyclophosphamide, at long-terms. *Zhurnal anatomii i gistopatologii.* 2013; 2 (2): 51–55. (In Russ.)]
2. Бондарь Г.В., Антипова С.В. *Лекции по клинической онкологии.* Луганск: Луганская областная типография. 2009; 585 с. [Bondar' G.V., Antipova S.V. *Lektsii po klinicheskoy onkologii.* (Lectures on clinical oncology.) Lugansk: Lugansk regional printing office. 2009; 585 p. (In Russ.)]
3. Волошин М.А., Чайковский Ю.Б., Куш О.Г. *Основы иммунологии та иммуноморфологии.* Запоріжжя — Київ. 2010; 170 с. [Voloshin M.A., Chaykovs'kiy Yu.B., Kushch O.G. *Osnovi imunologii ta imunomorfologii.* (Basics of immunology and immunomorphology.) Zaporizhzhya — Kiiv. 2010; 170 p. (In Russ.)]
4. Западнюк В.И., Западнюк И.П., Захария Е.А. *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте.* К.: Вища школа. 1983; 254 с. [Zapadnyuk V.I., Zapadnyuk I.P., Zakhariya E.A. *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente.* (Laboratory animals. Breeding, care, use in the experiment.) Kiev: Vishcha shkola. 1983; 254 p. (In Russ.)]
5. Захаров А.А. Особенности ультрамикроскопического строения тимуса половозрелых белых крыс после иммуносупрессии. *Укр. морфологічний альманах.* 2008; 6 (1): 77–79. [Zakharov A.A. Ultrastructural features of thymus structure of mature white rats after immunosuppression. *Ukrain's'kiy morfologichniy al'manakh.* 2008; 6 (1): 77–79. (In Russ.)]
6. Кашенко С.А., Захаров А.А. Органометрические особенности строения тимуса белых крыс после иммуностимуляции и иммуносупрессии. *Укр. журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2009; 4 (3): 50–52. [Kashchenko S.A., Zakharov A.A.. Organometric features of thymus structure of white rats after immunostimulation and immunosuppression. *Ukrains'kiy zhurnal klinichnoy ta laboratornoy meditsini.* 2009; 4 (3): 50–52. (In Russ.)]
7. Лосева Л.Ф., Доненко Ф.В., Лебединская О.В. и др. Некоторые особенности фармакодинамики циклофосфана у экспериментальных животных. *Мед. иммунол.* 2011; 13 (4–5): 52. [Loseva L.F., Donenko F.V., Lebedinskaya O.V. et al. Some features of the cyclophosphamide pharmacodynamics in experimental animals. *Meditsinskaya immunologiya.* 2011; 13 (4–5): 52. (In Russ.)]
8. Михайлова М.Н., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю. Использование имунофана для коррекции изменений гематологических показателей, вызванных циклофосфаном. *Inter. J. Immunorehabilitation.* 2003; 5 (2): 230. [Mikhaylova M.N., Merkulova L.M.,

Struchko G.Yu. Using imunofan for correction of changes in hematological parameters caused by cyclophosphamide. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2003; 5 (2): 230. (In Russ.)]

9. Овчаренко В.В., Маврич В.В. *Компьютерная программа для морфометрических исследований «Morpholog»*. Свидетство про регистрацию авторского права на творч. №9604, дата регистрации 19.03.2004. [Ovcharenko V.V., Mavrich V.V. *Computer software for morphometric studies «Morpholog»*. Certificate of registration of copyright №9604, registration date 19.03.2004. (In Russ.)]

10. Сепиашвили Р.И. Функциональная система иммунного гомеостаза. *Аллергол. и иммунол.* 2003; 4 (2): 5–14. [Sepiashvili R.I. A functional system of immune homeostasis. *Allergologiya i immunologiya*. 2003; 4 (2): 5–14. (In Russ.)]

11. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москвичёв Е.В.

и др. Морфологические изменения тимуса после применения полиоксидония. *Фундаментал. исслед.* 2012; 5 (1): 197–202. [Struchko G.Y., Merkulova L.M., Moskvichev E.V. et al. Morphological changes of thymus after use polioxidonium. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012; 5 (1): 197–202. (In Russ.)]

12. Gladstone D.E., Zamkoff K.W., Krupp L. et al. High-dose cyclophosphamide for moderate to severe refractory multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 2006; 63 (10): 1388–1393.

13. Nakahara T., Uchi H., Lesokhin A.M. et al. Cyclophosphamide enhances immunity by modulating the balance of dendritic cell subsets in lymphoid organs. *Blood*. 2010; 115 (22): 4384–4392.

14. Prakash Gupta V., Singh S.M., Singh M.P. et al. Effect of intrauterine exposure of murino fetus to cyclophosphamide on development of thymus. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2007; 29 (1): 17–30.

УДК 612.753: 616.71-001.5-089.227.84: 616.718.5-031: 612.089.61

## МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ОСТЕОСИНТЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИМПЛАНТАТОВ С ПОКРЫТИЕМ НИТРИДАМИ ТИТАНА И ГАФНИЯ

Дмитрий Эдуардович Цыплаков<sup>1</sup>, Анастасия Эрастовна Изосимова<sup>2</sup>,  
Фаина Владимировна Шакирова<sup>2</sup>, Ильдар Фуатович Ахтямов<sup>1\*</sup>,  
Эльмира Биктемировна Гатина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

<sup>2</sup>Казанская государственная академия ветеринарной медицины, г. Казань, Россия

Поступила 04.02.2016; принята в печать 01.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-585

**Цель.** Сравнительная морфологическая оценка репаративных процессов в костной и окружающих мягких тканях при интрамедуллярном остеосинтезе имплантатами из медицинской стали и имплантатами из медицинской стали с покрытием нитридами титана.

**Методы.** Экспериментальной моделью служили 40 кроликов, которым проводили открытую остеотомию большеберцовой кости с последующим ретроградным введением имплантата в костномозговой канал. Использовали спицы диаметром 2 мм из стали 12Х18Н9Т с покрытием нитридами титана и гафния. В контрольной группе использовали аналогичные спицы без покрытия. Гистологические срезы фрагментов костной ткани и послеоперационной раны, изъятых для морфологического исследования на 10-е, 30-е, 60-е и 180-е сутки от начала эксперимента, окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону.

**Результаты.** Процентное соотношение лейкоцитарно-некротических масс на 10-е сутки составляло 3,5±0,2% в опытной группе и 6,0±0,4% в группе сравнения (p < 0,05). В большинстве случаев происходило неосложнённое заживление перелома с началом формирования пластинчатой кости на 30-е сутки эксперимента. В группе сравнения зарегистрировано наличие большего объёма хрящевой ткани по отношению к опытной группе: 12,4±1,9 и 5,0±0,3% соответственно — на 10-е сутки, 10,7±0,8 и 4,0±0,4% — на 30-е сутки (p < 0,05). Участки рассасывания хрящевой ткани сохранялись в группе сравнения и на 60-е сутки. Большой объём покрывающего рубец эпителия уже на 10-е сутки был выявлен в опытной группе (9,3±0,5% против 5,0±0,3%, p < 0,05). Для группы сравнения было характерным длительное сохранение рубцовой ткани без признаков реорганизации.

**Вывод.** Остеосинтез с применением спиц с покрытием нитридами титана и гафния способствует уменьшению воспалительной реакции в окружающих тканях, ускоряет процесс репаративной регенерации, обеспечивая более раннюю эпителизацию раны и снижая вероятность развития осложнений в виде неполного закрытия дефекта костной ткани.

**Ключевые слова:** остеосинтез, имплантат, нитрид титана, нитрид гафния, регенерация.

## MORPHOMETRIC JUSTIFICATION OF OSTEOSYNTHESIS USING IMPLANTS COATED WITH TITANIUM AND HAFNIUM NITRIDES

D.E. Tsyplakov<sup>1</sup>, A.E. Izosimova<sup>2</sup>, F.V. Shakirova<sup>2</sup>, I.F. Akhtyamov<sup>1</sup>, E.B. Gatina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

<sup>2</sup>Kazan State Medical Academy of Veterinary Medicine, Kazan, Russia

**Aim.** To perform comparative and morphological assessment of the reparative processes in the bone and the surrounding soft tissues during intramedullary osteosynthesis using stainless steel implants and titanium nitride coated stainless steel implants.