

КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

При поддержке Российского общества патологоанатомов

Том 15 | № 3 | 2026

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

**«Клиническая
и экспериментальная
морфология»**

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Периодичность: 6 раз в год

Основан в 2011 году

Журнал индексируется в:
Scopus;
RSCI;
ЕГПНИ – «Белый список»;
РИНЦ;
представлен в информационной
базе данных eLIBRARY.ru

Включен в перечень ВАК

Учредитель
ФГБНУ «РНЦХ
им. акад. Б.В. Петровского»
119435, Москва,
Абрикосовский пер., д. 2

Адрес редакции
117418, Москва,
ул. Цюрупы, д. 3
Заведующая редакцией
Куликова К.А.
Научный редактор
Грушецкая Е.О.

Телефоны +7 (499) 120-13-34
+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru
www.cem-journal.ru

Тираж 500 экземпляров
Издательство
«Группа МДВ»
www.mdv-group.ru

Подписные индексы:

70045 по каталогу
агентства «Урал-Пресс»

70045 по каталогу «Пресса
России» через агентство АРЗИ

Регистрационный номер СМИ:
ПИ № ФС77-83521
от 24 июня 2022 года

© НИИ морфологии человека
им. акад. А.П. Авцина
ФГБНУ РНЦХ
им. акад. Б.В. Петровского

Главный редактор

Михалева Л.М., член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, профессор,
Москва, Россия

Почетный редактор

Кактурский Л.В., член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, профессор,
Москва, Россия

Заместитель главного редактора

Зайратьяниц О.В., доктор мед. наук, профессор, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Процина А.Е., доктор биол. наук, доцент, Москва, Россия

Редакционная коллегия

Александрова М.А., доктор биол. наук,
Москва, Россия

Андреева Е.Р., доктор биол. наук, доцент,
Москва, Россия

Арешидзе Д.А., кандидат биол. наук,
Москва, Россия

Асатурова А.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Баринова И.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Буравков С.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Ельчанинов А.В., доктор мед. наук,
доцент, Москва, Россия

Ковригина А.М., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Кондашевская М.В., доктор биол. наук,
доцент, Москва, Россия

Кушлинский Н.Е., академик РАН, доктор
мед. наук, профессор, Москва, Россия

Макарова О.В., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Мидибер К.Ю., кандидат мед. наук,
Москва, Россия

Мхитаров В.А., кандидат биол. наук,
Москва, Россия

Никитюк Д.Б., академик РАН, доктор
мед. наук, профессор, Москва, Россия

Николенко В.Н., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Пауков В.С., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Постнов А.Ю., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Рыжова М.В., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Савельев С.В., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Черняев А.Л., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Редакционный совет

Авагимян А.А., кандидат мед. наук,
Ереван, Армения

Бухвалов И.Б., доктор биол. наук,
профессор, Гамбург, Германия

Волощук И.Н., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Гарновская М.Н., кандидат биол. наук,
доцент, Чарльстон, США

Ермолаева С.А., доктор мед. наук,
Москва, Россия

Ерофеева Л.М., доктор биол. наук,
профессор, Москва, Россия

Коришунов А.Г., доктор мед. наук,
профессор, Гейдельберг, Германия

Кочуков М.Ю., кандидат мед. наук,
Хьюстон, США

Кравцов В.Г., кандидат мед. наук,
Тель-Авив, Израиль

Милованов А.П., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Мишнев О.Д., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

Толибова Г.Х., доктор мед. наук,
Санкт-Петербург, Россия

Фатхудинов Т.Х., доктор мед. наук,
доцент, Москва, Россия

К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами редакции.
Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

Материалы журнала распространяются на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0). Авторы сохраняют за собой авторские права. Воспроизведение материалов в коммерческих целях допускается только с разрешения журнала «Клиническая и экспериментальная морфология».

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

With the support of the Russian Society of Pathology

Volume **15** | No **3** | 2026

ISSN 2226-5988

eISSN 2686-6749

**“Clinical
and experimental
morphology”**

SCIENTIFIC AND PRACTICAL
PEER-REVIEWED JOURNAL

Frequency: 6 issues per year

Founded in 2011

The journal is indexed in Scopus;
Russian Science Citation Index
(RSCI);
Unified State List of Academic
Publications – “Whitelist”
(USLAP – “Whitelist”);
Russian Index of Science Citation
(RISC);
and eLIBRARY.ru database

The Journal is included
in the current List of Scientific
Journals of the Higher Attestation
Commission of Russia
(Vysshaya Attestatsionnaya
Komissiya, VAK)

Journal founder

FSBSI “Petrovsky National
Research Centre of Surgery”
Abrikosovsky lane, 2,
Moscow, 119435, Russia

Editorial office address

Tsyurupy st., 3,
Moscow, 117418, Russia
Managing editor Kulikova K.A.
Science editor Grushetskaya E.O.

Tel. +7 (499) 120-13-34
+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru
www.cem-journal.ru

Edition of 500 copies

Publisher
“Gruppa MDV”
www.mdv-group.ru

Subscription index:

70045 according
to the “Ural-Press” agency catalog

70045 according to the “Pressa
Rosii” catalog via ARZI agency

Registration number:
ПИ № ФС77-83521
dated June 24, 2022

© Avtsyn Research Institute
of Human Morphology of FSBSI
“Petrovsky National Research
Centre of Surgery”

Editor-in-Chief

Mikhaleva, Lyudmila M., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Honorary Editor-in-Chief

Kakturskiy, Lev V., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Zairatyants, Oleg V., Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Executive Secretary

Proshchina, Alexandra E., Dr. Sci. Biol., Associate Professor, Moscow, Russia

Editorial Board

Aleksandrova, Maria A., Dr. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Andreeva, Elena R., Dr. Sci. Biol., Associate
Professor, Moscow, Russia

Areshidze, David A., Cand. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Asaturova, Aleksandra V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Barinova, Irina V., Dr. Sci. Med., Moscow,
Russia

Buravkov, Sergey V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Chernyaev, Andrey L., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Elchaninov, Andrey V., Dr. Sci. Med.,
Associate Professor, Moscow, Russia

Kondashevskaya, Marina V.,
Dr. Sci. Biol., Associate Professor, Moscow,
Russia

Kovrigina, Alla M., Dr. Sci. Biol., Professor,
Moscow, Russia

Avagimyan, Ashot A., Cand. Sci. Med.,
Yerevan, Armenia

Buchwalow, Igor B., Dr. Sci. Biol., Professor,
Hamburg, Germany

Ermolaeva, Svetlana A., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Erofeeva, Lyudmila M., Dr. Sci. Biol.,
Professor, Moscow, Russia

Fatkhudinov, Timur Kh., Dr. Sci. Med.,
Associate Professor, Moscow, Russia

Garnovskaya, Maria N., Cand. Sci. Biol.,
Associate Professor,
Charleston, USA

Kushlinsky, Nikolai E., Academician
of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Makarova, Olga V., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Midiber, Konstantin Yu., Cand. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Mkhitarov, Vladimir A., Cand. Sci. Biol.,
Moscow, Russia

Nikityuk, Dmitriy B., Academician
of the Russian Academy of Sciences,
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

Nikolenko, Vladimir N., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Paukov, Vyacheslav S., Dr. Sci. Med.,
Professor, Moscow, Russia

Postnov, Anton Yu., Dr. Sci. Med., Moscow,
Russia

Ryzhova, Marina V., Dr. Sci. Med.,
Moscow, Russia

Savelyev, Sergey V., Dr. Sci. Biol., Professor,
Moscow, Russia

Advisory Board

Kochukov, Mikhail Yu., Dr. Sci. Med.,
Houston, USA

Korshunov, Andrey G., Cand. Sci. Med.,
Professor, Heidelberg, Germany

Kravtsov, Vladimir G., Cand. Sci. Med.,
Tel Aviv, Israel

Milovanov, Andrey P., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Mishnev, Oleko D., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Tolibova, Gulruksor Kh., Dr. Sci. Med.,
Saint Petersburg, Russia

Voloshchuk, Irina N., Dr. Sci. Med., Professor,
Moscow, Russia

Only articles prepared in accordance with the requirements of the editorial board are accepted for publication.
The authors' points of view may not coincide with that of the editorial board.

The journal materials are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International
(CC BY-NC 4.0) License. The Authors retain copyright. Commercial use of the materials is allowed only with the permission
of the “Clinical and Experimental Morphology” journal.

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ
REVIEWS

И.Н. Сычева, Н.А. Олейникова, Н.В. Данилова
Опухоль-ассоциированные макрофаги
и их особенности как компонентов опухолевой
стромы рака мочевого пузыря

5

I.N. Sycheva, N.A. Oleynikova, N.V. Danilova
Characteristics of tumor-associated macrophages
in the bladder cancer tumor stroma

Д.И. Петров, Л.В. Вихарева, С.Л. Матусевич
Морфологические и иммуногистохимические
маркеры оценки эффективности терапии
полифенолами и антоцианами в моделях
атопического дерматита

15

D.I. Petrov, L.V. Vikhareva, S.L. Matusевич
Morphological and immunohistochemical markers
for evaluating the effects of polyphenols
and anthocyanins in experimental models
of atopic dermatitis

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ORIGINAL RESEARCH

*В.С. Сухоруков, Т.И. Баранич, О.В. Вельц,
Д.Н. Воронков, Д.С. Лазарев, Е.В. Щербак,
А.П. Ракиша, А.Н. Яцковский, В.В. Глинкина*
Особенности распределения ключевого маркера
митохондриального биогенеза PGC-1 α
в разных зонах головного мозга пациентов
с болезнью Альцгеймера

25

*V.S. Sukhorukov, T.I. Baranich, O.V. Velts,
D.N. Voronkov, D.S. Lazarev, E.V. Shcherbak,
A.P. Raksha, A.N. Yatskovskiy, V.V. Glinkina*
Regional distribution of the mitochondrial
biogenesis regulator PGC-1 α in the brain
in Alzheimer's disease

*С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров, А.Д. Журавлев,
Е.Е. Егоров, М.А. Попов, Е.С. Чегодаев,
Д.Б. Эрдынеева, Х.С. Вишнякова, У.С. Хованцева,
А.М. Маркин, Д.Г. Брешенков, Э.Р. Чарчян,
А.Н. Орехов*
Оценка воспалительной реакции и митофагии
в моноцитах, ТНР-1, гладкомышечных клетках
и фибробластах

34

*S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov, A.D. Zhuravlev,
Y.E. Yegorov, M.A. Popov, Y.S. Chegodaev,
D.B. Erdyneeva, K.S. Vishnyakova, U.S. Khovantseva,
A.M. Markin, D.G. Breshenkov, E.R. Charchyan,
A.N. Orekhov*
Assessment of inflammatory response and mitophagy
in monocytes, THP-1 cells, smooth muscle cells,
and fibroblasts

*Е.К. Карсунцева, А.Д. Воронова, В.Ю. Покидько,
А.И. Мухина, В.С. Шишкина, А.В. Чадин, Г.А. Фурса,
А.В. Федоров, О.В. Степанова, В.П. Чехонин*
Survival, migration, and differentiation of neural
stem/progenitor cells in experimental Alzheimer's
disease

48

*Е.К. Карсунцева, А.Д. Воронова, В.Ю. Покидько,
А.И. Мухина, В.С. Шишкина, А.В. Чадин, Г.А. Фурса,
А.В. Федоров, О.В. Степанова, В.П. Чехонин*
Выживаемость, миграция и дифференцировка
нейральных стволовых/прогениторных клеток
при экспериментальной болезни Альцгеймера

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ CASE STUDIES

*М.В. Егоров, Ю.А. Ковалева, Г.Р. Сетдикова,
Л.Ф. Скляр, И.В. Комердус*
Генерализованная форма ветряной оспы
на фоне сахарного диабета 1-го типа

58 *M.V. Egorov, Yu.A. Kovaleva, G.R. Setdikova,
L.F. Sklyar, I.V. Komerdus*
Varicella in a patient with type 1 diabetes mellitus

*А.А. Тебенкова, З.В. Гюева, Д.Е. Селезнев,
А.И. Михалев, А.Е. Бирюков, Е.Д. Долгов,
А.К. Конюкова, Л.М. Михалева*
Трудности диагностики AL-λ-амилоидоза
тонкой кишки, имитирующей кишечную
непроходимость

65 *A.A. Tebenkova, Z.V. Gioeva, D.E. Seleznev,
A.I. Mikhalev, A.E. Birukov, E.D. Dolgov,
A.K. Konyukova, L.M. Mikhaleva*
Diagnostic challenges of AL-λ amyloidosis of the small
intestine simulating intestinal obstruction

МЕТОДЫ TECHNICAL NOTES

*А.А. Чурилов, С.А. Борзенко, Л.В. Кактурский,
Д.С. Островский, Т.З. Керимов, М.Х. Хубецова*
Сравнительный анализ способов депигментации
нативного ретинального пигментного эпителия
и 3D культуры его клеток

73 *A.A. Churilov, S.A. Borzenok, L.V. Kakturskiy,
D.S. Ostrovskiy, T.Z. Kerimov, M.Kh. Khubetsova*
Comparative analysis of depigmentation methods
for retinal pigment epithelium and 3D cell spheroids

В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ FOR PRACTITIONERS

*Е.И. Шурыгина, И.В. Цветнов, Э.Н. Пирогова,
Н.С. Карнаухов, Н.В. Кокосадзе,
Н.В. Кремнева, Г.А. Дудин*
Особенности организации патоморфологической
диагностики лимфом в условиях
многопрофильного онкологического центра

85 *E.I. Shurygina, I.V. Tsvetnov, E.N. Pirogova,
N.S. Karnaukhov, N.V. Kokosadze,
N.V. Kremneva, G.A. Dudina*
Organizing pathological diagnosis of lymphomas
in a multidisciplinary oncology center

Опухоль-ассоциированные макрофаги и их особенности как компонентов опухолевой стромы рака мочевого пузыря

И.Н. Сычева, Н.А. Олейникова, Н.В. Данилова

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Медицинский научно-образовательный институт, Москва, Россия

Резюме. Опухоль-ассоциированные макрофаги – гетерогенная группа клеток иммунного микроокружения в строме опухолей, играющая исключительную роль в развитии новообразования и прогрессии заболевания, а также напрямую связанная с лечебными тактиками. В последние годы исследования уротелиального рака мочевого пузыря отмечается перспективность изучения этих групп клеток и их маркеров-мишеней. Особенно важно понимать значимость их биологической роли у пациентов с бациллотерапией Кальметта–Герена (БЦЖ-терапия): самого доступного метода малоинвазивного лечения в России. В ходе анализа данных литературы об опухолю-ассоциированных макрофагах были описаны наиболее перспективные маркеры-мишени, их связь с клинико-прогностическими критериями. Представленные в работе маркеры могут быть использованы для улучшения диагностических панелей уротелиальных карцином и усовершенствования критериев отбора групп пациентов для применения различных лечебных стратегий, включающих малоинвазивные методы. Цели настоящего обзора – обозначение актуальности исследования мезенхимного микроокружения рака мочевого пузыря и его компонентов, выявление прогностически значимых маркеров опухолю-ассоциированных макрофагов на основании данных современной литературы.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, уротелиальная карцинома, опухолю-ассоциированные макрофаги, опухолю-инфильтрирующие лимфоциты, иммуногистохимия, опухолевое микроокружение, строма опухоли

Для корреспонденции: Ирина Николаевна Сычева. E-mail: athene.ari@gmail.com

Для цитирования: Сычева И.Н., Олейникова Н.А., Данилова Н.В. Опухоль-ассоциированные макрофаги и их особенности как компонентов опухолевой стромы рака мочевого пузыря. Клин. эксп. морфология. 2026;15(3):5–14. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.5-14.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 17.11.2025. Получена после рецензирования 08.12.2025. Принята в печать 16.02.2026.

Characteristics of tumor-associated macrophages in the bladder cancer tumor stroma

I.N. Sycheva, N.A. Oleynikova, N.V. Danilova

Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Institute, Moscow, Russia

Abstract. Tumor-associated macrophages are a heterogeneous population of immune cells within tumor stroma that play a critical role in tumor development, disease progression, and treatment response. Recent studies of urothelial bladder cancer have highlighted the potential value for investigating these cell populations and their associated target markers. Understanding their biological role is particularly important in patients undergoing bacillary Calmette–Guérin therapy, the most accessible minimally invasive treatment option in Russia. An analysis of international literature on tumor-associated macrophages has identified the most promising target markers and their associations with clinical and prognostic criteria. The markers discussed in this review may contribute to improvement of diagnostic panels for urothelial carcinoma and refine patient selection criteria for various treatment strategies, including minimally invasive methods. This review aimed to highlight the importance of studying the mesenchymal microenvironment of bladder cancer and its components and to identify prognostically significant markers of tumor-associated macrophages based on current literature.

Keywords: bladder cancer, urothelial carcinoma, tumor-associated macrophages, tumor-infiltrating lymphocytes, immunohistochemistry, tumor microenvironment, tumor stroma

Corresponding author: Irina N. Sycheva. E-mail: athene.ari@gmail.com

For citation: Sycheva I.N., Oleynikova N.A., Danilova N.V. Characteristics of tumor-associated macrophages in the bladder cancer tumor stroma. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)5–14 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.5-14.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 17.11.2025. **Received in revised form** 08.12.2025. **Accepted** 16.02.2026.

Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) – злокачественное заболевание, лечение которого в настоящее время эволюционирует, так как появляется все больше экспериментальных данных, позволяющих точно влиять на определенные молекулярно-генетические механизмы не только в злокачественных клетках, но и в десмопластической строме, которая включает в себя клеточные компоненты, ассоциированные с опухолью, и экстрацеллюлярный матрикс.

Мировая тенденция органосохраняющих хирургических стратегий, рост числа случаев химиорезистентных опухолей и высокий риск отдаленного метастазирования требуют регламентированных и отработанных схем применения таргетных препаратов для улучшения прогноза у пациентов с РМП. Особый интерес врачей – онкологов и урологов направлен на возможность применения иммунотерапии как компонента так называемой тримодальной терапии: трансуретральная резекция (ТУР) мочевого пузыря и дистанционная лучевая терапия с одновременной химиотерапией [1]. В настоящий момент, являясь наиболее перспективной в отношении органосохраняющего лечения мышечно-инвазивного РМП (МИРМП), эта стратегия ограничена в применении отсутствием четких критериев для каждого из этапов. В 2021 году коллектив авторов под руководством Н.В. Новикова (Невский консенсус, 2021) дополнил рекомендации по проведению тримодальной терапии РМП, акцентировав внимание на значимости лучевого этапа лечебного протокола и влияния молекулярных маркеров и подтипов уротелиального рака на верный выбор терапевтической стратегии [2].

Для профилактики развития рецидива РМП Европейской организацией по исследованию и лечению рака (European Organisation for Research and Treatment of Cancer, EORTC) и Испанской группой по онкоурологии (Club Urológico Español para el Tratamiento Oncológico, CUETO) на основании клинических признаков опухоли предлагалось разделить мышечно-неинвазивный РМП (МНРМП) на группы риска. В настоящее время признано, что обе прогностические модели переоценивают риск рецидива и прогрессии МНРМП и не позволяют достоверно предсказать эффективность внутрипузырной иммунотерапии [3]. Так, до 40% опухолей резистентно к внутрипузырной химио- и терапии бациллой Кальметта–Герена (bacillus Calmette–Guérin therapy, BCG therapy, БЦЖ-терапия) и требует цистэктомии [4].

Рабочей группой по уротелиальной карциноме Европейской ассоциации урологов (European Association of Urology, EAU) в 2024 году опубликовано многоцентровое ретроспективное исследование с участием 640 пациентов с МНРМП высокого риска (с вероятностью 20% прогрессирования заболевания в течение пяти лет), получавших адекватную БЦЖ-терапию с 2007 по 2020 год. Результаты показали благоприятный прогноз в изучаемой группе, что подтверждает значимость БЦЖ-терапии для пациентов с МНРМП высокого риска, особенно при стойком ответе на лечение. По мнению авторов, продолжение поддерживающей БЦЖ-терапии может служить приемлемой альтернативой радикальной цистэктомии [5].

В обзоре A. Di Spirito et al. [6] обсуждались важность понимания механизмов взаимодействия клеточных компонентов десмопластической стромы и их значение для разработки инновационных методов лечения. Играя решающую роль в прогрессировании и метастазировании рака, а также эффективности терапии, микроокружение опухоли может способствовать развитию терапевтической резистентности, особенно при использовании ингибиторов иммунных контрольных точек. Таким образом, изучение и выявление прогностически значимых специфических белков-маркеров и их связь с клинико-прогностическими критериями – приоритетные задачи мирового научного сообщества.

Общие данные о макрофагах как компонентах десмопластической стромы

Ведущими клеточными компонентами, рассматриваемыми в качестве новых таргетных мишеней, являются опухоль-ассоциированные макрофаги (tumor-associated macrophages, TAM). В контексте опухолевой стромы эта группа клеток гетерогенна: выделяют M1-TAM, характеризующиеся классическими путями активации и обладающие провоспалительными и антиангиогенными функциями, преобладающими в нормооксических областях опухоли, и группу M2-TAM, активированных альтернативными путями через взаимодействие с Th-2 (Т-лимфоциты-хелперы 2-го типа) и IL-4 (интерлейкин-4). Последняя группа макрофагов особенно интересна: эти клетки обеспечивают ремоделирование тканей (в том числе и десмопластической опухолевой стромы), имеют ангиогенные свойства: активируются в гипоксических областях опухолевой ткани и обеспечивают активную пролиферацию перитуморальных капилляров [7]. Гетерогенность TAM

усложняет поиск и выбор конкретных таргетных мишеней для терапии. Основной упор в изучении направлен на их ангиогенные свойства и корреляцию с плохим прогнозом и отдаленными метастазами.

Вопрос гетерогенности TAM сложен и, несмотря на большой пул исследовательских работ, до сих пор остается частично открытым. В зависимости от окружающих факторов (инфекционные процессы различной этиологии, тканевые повреждения, поддержание гомеостаза, развитие злокачественной опухоли) макрофаги активируются типичными путями: липополисахаридом (LPS) и/или через стимуляцию интерферона-гамма (IFN- γ) и липополисахаридом, обретая функции M1-TAM, или за счет IL-4, IL-13, IL-6, IL-10 и трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) становятся M2-TAM (рис.).

Существует наиболее часто используемая экспериментальная номенклатура M2-TAM, которая необходима научному сообществу для схематичности и упрощения неоднозначных механизмов активации, а также важна для междисциплинарного взаимодействия, чтобы фармацевтические и регулирующие органы могли проводить значимые сравнения диагностических показателей или показателей эффективности [8]. Она включает в себя группы M2a, M2b, M2c и M2d, которые принципиально отличаются от M1-подтипа влиянием на поддержание гомеостаза, репаративные процессы и на прогрессирование опухоли, стимулируя иммуносупрессию и ангиогенез. M2a группа поляризуется под действием IL-4 и IL-13 и принимает участие в противопаразитарном иммунном ответе, опосредованном Th-2. M2c и M2d группы находятся в процессе изучения: считается, что они участвуют в ангиогенезе, секретируя фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A), и обладают рецепторами к белку CD163, способствуют опухолевой прогрессии [9]. M2b сами действуют как иммунорегулирующие клетки, синтезируя фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α), IL-1, IL-6 и IL-10, ослабляя воспалительный и противоопухолевый ответ [10].

Макрофаги M1, M2a и M2c-подтипов были подробно изучены в культурах клеток методом проточной цитометрии в 2022 году. Авторы работы отметили влияние воспалительных стимулов на поляризацию макрофагов и разработали 11-цветный полихроматический проточный цитометрический анализ, исключая возможные описанные стимул-индуцированные сдвиги. По результатам работы высокая степень окрашивания CD86 наблюдалась в поляризованных IFN- γ и IFN- γ +LPS клетках типа M1, но не на макрофагах M2a или M2c, реакция на CD206 и аргиназу-1 характеризовала макрофаги M2a. Таким образом, комбинация CD86 и CD206 теоретически могла бы позволить эффективно различить макрофаги M1 (CD86^{high}, CD206^{low}), M2a (CD86^{low}, CD206^{high}, аргиназа-1+) и M2c (CD86^{low}, CD206^{low}) [11].

Подтип M2d был изучен в контексте рака поджелудочной железы группой китайских исследователей

в 2025 году, показавшей путь поляризации TAM в M2d посредством 2,5-олигоаденилатсинтазы 3 (OAS3) с высокой секрецией лактата, через ось лактат/METTL3/OAS3. Также были получены данные о том, что M2d снижают цитотоксичность Т-клеток CD8+ и одновременно стимулируют неоангиогенез опухоли, а дефицит OAS3 ухудшал поляризацию M2d-TAM и коррелировал с повышенной терапевтической эффективностью гем-

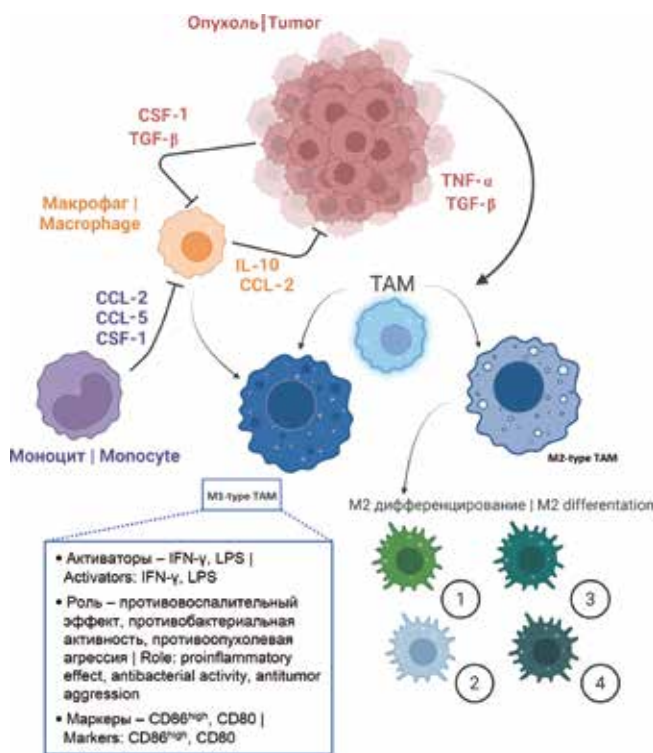


Рис. Классификация TAM.

TAM – опухоль-ассоциированные макрофаги.

M2 дифференцирование: 1 – активаторы – IL-4 и IL-13, роль – участие в противопаразитарном иммунном ответе (Th-2), противовоспалительный эффект, заживление ран. Маркер – CD206^{high}. 2 – активаторы – LPS+иммунный комплекс, IL-1 β +иммунный комплекс, роль – иммунорегуляция, ослабление воспалительной и противоопухолевой активности. Маркер – CD86. 3 – активаторы – IL-10, глюкокортикоиды, роль – иммуноподавляющие свойства, фагоцитоз, ремоделирование тканей. Маркер – CD163, аргиназа-1. 4 – активаторы – OAS3, LPS+лиганды аргиназы-1, IL 6, роль – опухолевая прогрессия, ангиогенез. Маркер – VEGF-A. Рисунок создан с помощью Biorender.com

Fig. Classification of TAMs.

TAMs – tumor-associated macrophages.

M2 differentiation: 1 – The activators are IL-4 and IL-13, whose role is to participate in antiparasitic immune response (Th-2), anti-inflammatory effect, wound healing. The marker is CD206^{high}. 2 – The activators are LPS+ immune complex and IL-1 β + immune complex, whose role is immunoregulation and weakening inflammatory and antitumor activity. The marker is CD86. 3 – The activators are IL-10 and glucocorticoids, whose role is immunosuppression, phagocytosis, and tissue remodeling. Markers are CD163 and arginase-1. 4 – The activators are OAS3, LPS+Arg-1 ligands, and IL-6, whose role is tumor progression and angiogenesis. The marker is VEGF-A. The image created with Biorender.com

цитабина и моноклональных антител к PD-L1 в гуманизированных мышиных моделях [12].

В обзоре A. Mantovani et al. в 2017 году была осуществлена попытка систематизировать знания о TAM и их связи с клиническим и терапевтическим аспектом. Как известно, макрофаги происходят из моноцитов за счет воздействия хемоаттрактантов, таких как CCL2 и CCL5, и цитокинов (например, CSF-1 и члены семейства VEGF), вносят вклад в раннюю фазу элиминации атипичных клеток за счет антиген-представляющих функций, хемотаксиса Т-клеток и интерферонов. По мере роста и формирования пула атипичных клеток последние продуцируют CSF-1 и TGF- β , запускают активные иммунные реакции, стимулируют выработку IL-4 и IL-13 (от Т-хелперов 2-го типа), хемоаттрактанта CCL2, IL-10 (макрофаги) и IL-1 (клетки стромы). Нарастающее нарушение тканевого гомеостаза связано с подавлением эффективного адаптивного иммунитета. Описанные биологически активные молекулы (TGF- β , проопухолевые интерлейкины, TNF- α) вызывают фенотипические сдвиги в макрофагах, придавая им разнообразные свойства, обеспечивающие перекос и подрыв функции иммунных клеток. Так происходит переход от «равновесия» иммунной реакции до «избегания», когда TAM могут способствовать иммуносупрессивной активности в десмопластической строме [13].

Понимание межклеточного взаимодействия TAM с другими компонентами иммунного микроокружения РМП имеет значение в контексте применения наиболее доступного метода лечения РМП в России – БЦЖ-терапии [14]. Она является средством первого выбора внутрипузырного лечения при большинстве клинических стратегий, согласно рекомендациям Европейской и американской ассоциации урологов [15] и практическим рекомендациям Российского общества клинической онкологии [14]. Введение препарата в полость мочевого пузыря стимулирует местный воспалительный ответ в слизистой оболочке органа за счет антиген-презентирующих клеток, предоставляющих антигены БЦЖ-специфичным CD4⁺ Т-клеткам. Секреция провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6 (IL-6) и IFN- γ , запускает иммунную реакцию, вызванную Th1, CD8⁺ Т-клетками и естественными клетками-киллерами, с активацией макрофагов, которые распознают атипичные клетки и уничтожают их [16–18]. Сравнивая характеристики компонентов перитуморального микроокружения в материале от пациентов до проведения БЦЖ-терапии и после нее, исследователи получают больше информации о ведущих клетках воспаления, связанных с клинико-прогностическими характеристиками, для улучшения тактики ведения пациентов.

В обзорной статье иранских авторов были частично обобщены данные об иммунной активности TAM в десмопластической строме уротелиальных карцином и акцентировано спорное клиническое значение этой группы клеток. Известно, что высокий уровень резистентности к БЦЖ-терапии коррелирует с выраженной

инфильтрацией стромы M2-TAM и низкой безрецидивной выживаемостью. Тем не менее часть проанализированных исследований показала положительную связь CD68⁺ M1-TAM с аналогичными клинико-прогностическими критериями, что противоречит общей убежденности в защитной противотуморальной функции M1-TAM [19, 20].

Поиски механизмов связи и влияния макрофагальной инфильтрации на опухолевую прогрессию предприняты китайской группой под руководством J. Li et al. в 2022 году. Авторы предположили, что показавший свою прогностическую значимость во многих злокачественных тканях эпителиальный мембранный белок 1 (EMP1) будет демонстрировать аналогичные результаты в уротелиальных карциномах. Отметив ограниченные результаты анализов эффекта макрофагов M1 или M2 по отдельности, рабочая группа объединила их как соотношение макрофагов M1/M2. На широкой выборке из The Cancer Genome Atlas (TCGA, Атлас ракового генома) и Gene-Expression Omnibus (GEO) были применены различные алгоритмы (Tumor Immune Estimation Resource (TIMER), CIBERSORT), транскриптомика РНК отдельных клеток, а также проанализированы данные открытых источников. Сделаны выводы, что существует неоспоримая связь EMP1 с соотношением подклассов макрофагов. Высокое соотношение M1/M2 было связано с более благоприятным прогнозом рака мочевого пузыря, а высокое содержание EMP1 – с плохим прогнозом и усиленной пролиферативной активностью опухоли. EMP1 идентифицирован как ключевой ген, указывающий на соотношение M1/M2 [21].

Известно, что актуальными и исследуемыми маркерами TAM являются CD163, YKL-39 и CD68. Наиболее изученный белок CD163 прогностически важен в работе с образцами переходноклеточных карцином [22].

В обзоре В. Рябова и соавт. изучены работы, посвященные проангиогенным свойствам (связь с геном VEGF) отдельных подтипов TAM, синтезирующих хитиназоподобные белки YKL-39 и YKL-40. Повышенная концентрация YKL-40 в плазме связана с плохим прогнозом и более короткой выживаемостью при раке яичников, колоректальной карциноме, метастатической карциноме простаты и меланоме. Однако исследований, посвященных изучению связи указанных выше хитиназных гликопротеинов с прогностическими характеристиками РМП, много меньше, особенно плохо изучены свойства YKL-39 [23]. Получены неоднозначные данные его связи с эффектом неоадьювантной терапии (НАС) при раке молочной железы: повышенные уровни экспрессии YKL-39 в опухолях после НАС были предикторами увеличения риска отдаленных метастазов и плохого ответа на НАС у пациенток с неспецифической инвазивной карциномой молочной железы [24].

Достаточно известные и находящиеся в процессе изучения маркеры макрофагов CD68 и CD163 влияют на усиление ангиогенеза в опухолях различных локализаций и связаны с плохим прогнозом и лимфоваскулярной

инвазией [25]. Тем не менее данные литературы отчасти противоречивы, а большая часть оригинальных работ имеет маленькие клинические выборки, и интерпретация результатов требует масштабных исследований. N. Litviakov et al. [26] показали, что в опухолях молочной железы количество CD68+ TAM не имело статистически значимых различий у пациенток с объективным клиническим и патологическим ответом на NAC и у пациенток без такого ответа. В МИРМП в работе коллектива под руководством G. Sjö Dahl 2014 года наблюдалось преобладание CD68+ TAM. Выявлено сочетание слабого окрашивания CD68 с высокой плотностью окрашивания CD3 (Т-фенотип лимфоцитов), связанное с улучшенной выживаемостью, что подтверждает важность совместной оценки лимфоцитов и макрофагов в опухолевой строме. Таким образом, соотношение иммунологически активных клеток стромы и клиническая стадия являются ценным инструментом для прогнозирования [27]. В стороннем исследовании 2024 года R. Kamitani et al. в МНРМП с высоким риском прогрессирования и «горячим кластером» (опухоли с массивной инфильтрацией иммунными клетками лимфоцитарного ряда CD3+, CD4+, CD8+, FOXP3+, CD20+) отмечена тенденция преобладания инфильтрации CD68+ TAM, что свидетельствует о высокой степени злокачественности этих опухолей. Анализ образцов уротелиальных карцином после БЦЖ-терапии в этой же работе показал снижение именно иммунного окружения (CD3+, CD4+, CD8+, FOXP3+, CD20+), причем как в первично оцененных «холодных», так и в «горячих» опухолях, а значимых различий в инфильтрации CD68+ TAM не выявлено [28]. В 2022 году украинскими коллегами проведено исследование с оценкой микроокружения МИРМП. В работе оценивались маркеры CD8, FOXP3, CD68, CD163 и PD-L1 для определения влияния иммунного окружения опухоли на клинические исходы. Было установлено, что высокое содержание CD163+ TAM в десмопластической строме ассоциировано с ухудшением результатов лечения, тогда как количество CD8+ клеток и статус PD-L1 не оказывали значимого влияния на прогноз при МИРМП [29]. Напротив, в стороннем исследовании 2024 года статус PD-L1+ статистически значимо коррелировал с МИРМП и встречался на 5% чаще, чем в МНРМП [30].

В исследовании китайского коллектива авторов в 2022 году [31] была проведена масштабная аналитическая работа по изучению клинического значения и иммунорегуляторной роли инфильтрации и поляризации TAM в трех независимых когортах МИРМП. Выделены три подтипа опухолей в каждой из когорт, характеризующиеся уровнем инфильтрации и состоянием поляризации TAM: TAM^{low} (подтип I), TAM^{high}&M2/M1^{low} (подтип II) и TAM^{high}&M2/M1^{high} (подтип III). Во всех исследованных когортах подтип I демонстрировал повышенный уровень сигнатуры FGFR3, подтип II имел активацию сигнализации EGFR и подтип III представлял базально-плоскоклеточную

характеристику. Подтип II имел больше инфильтрации иммуногенных клеток (клетки CD8+, NK-клетки, клетки Th-1), у подтипа III наблюдалось повышенное количество проопухолевых иммунных клеток (тучные клетки, нейтрофилы и клетки Th-2), что способствовало опосредованному опухоли иммунному ускользанию. Анализ показал, что подтип III всех выборок обуславливает плохой прогноз, а когорта подтипа II характеризовалась высокой чувствительностью к терапии блокаторами PD-L1 (атезолизумаб) при метастатическом уротелиальном раке, что косвенно понималось по данным инфильтрации иммуногенными клетками. Подтип III имел низкую эффективность адъювантной химиотерапии и плохую чувствительность к блокаде PD-L1 у пациентов с МИРМП. Показано, что поляризация и инфильтрация TAM могут служить независимым прогностическим индикатором и предиктивным маркером эффективности системной терапии, включая адъювантную терапию и ингибиторы PD-L1.

Эти работы продемонстрировали, что механизмы ускользания от иммунного ответа при прогрессировании РМП смещены в сторону роли клеток врожденного иммунитета. Обозначены неоднозначность мировых исследований, касающихся TAM, и перспектива для морфологической оценки образцов до и после применения различных терапевтических стратегий, направленных конкретно на РМП, с целью поиска прогностически значимых маркеров TAM, способных стать морфологическими критериями отбора пациентов, опухоль которых более подвержена ответу на ту или иную терапию. Важно понимать, как реактивность и гетерогенность TAM изменяются под влиянием различных факторов (молекулярно-генетические особенности опухоли, терапевтические подходы), и выявить прогностически значимые маркеры для расширения диагностических возможностей с учетом малоинвазивных и неинвазивных методов диагностики и контроля рецидива. Доказано, что комбинация магнитно-резонансной томографии мочевого пузыря и цитологии мочи была сопоставима с цистоскопией для наблюдения за рецидивирующими поражениями при МНРМП по чувствительности, что может предоставить пациентам возможность выбора методов последующей диагностики [32].

CD68 и CD163 как ведущая пара макрофагальных маркеров в уротелиальном раке

CD68, являющийся членом семейства лизосомально-ассоциированных мембранных гликопротеинов (LAMP), в большом количестве продуцируется человеческими моноцитами и тканевыми макрофагами, считается панмакрофагальным белком-маркером и способствует фагоцитозу, врожденному иммунному ответу, а также опосредует набор и активацию M1-макрофагов [33]. В 2000 году опубликована работа T. Hanada et al. [34] с выборкой из 63 пациентов

с РМП, в которой изучалась связь между количеством ТАМ и клиническим исходом. Авторы выявили более сильное иммуногистохимическое окрашивание CD68+ ТАМ в инвазивных опухолях по сравнению с поверхностными формами РМП, а в многофакторном анализе Кокса количество ТАМ было значимым прогностическим параметром в дополнение к возрасту, микровакскуляризации и отдаленным метастазам.

М.М. Boström et al. [35] была предпринята попытка выяснить соотношение подтипов ТАМ друг с другом и клинко-прогностическими критериями. В качестве маркеров использовались CD68 (общий маркер), MAC387 (маркеры M1) и стабиллин-1 (маркер M2). CD68+ ТАМ оказались значительно связаны с признаками высокого риска (высокой степенью злокачественности и высокой клинической (сТ) и патоморфологической стадией (рТ), однако в комплексной оценке CD68, MAC387 и стабиллин-1 показали взаимосвязь с лучшей выживаемостью у пациентов, методом лечения которых была избрана ТУР. В выборке пациентов с радикальной цистэктомией высокая инфильтрация CD68+ ТАМ была связана с короткой общей выживаемостью [35]. Авторы намеренно исключили из исследования пациентов, прошедших БЦЖ-терапию или химиотерапию, справедливо считая, что данные методы приведут к изменениям характера воспалительного инфильтрата и не позволят оценить «чистую» выборку. Приведенные данные интересны тем, что, несмотря на общеизвестные противотуморальные свойства M1-ТАМ, в данной работе показаны противоречащие этой гипотезе результаты, что подтверждает необходимость многосторонней комплексной оценки маркеров воспалительного инфильтрата в уротелиальных карциномах.

Механизм воздействия ТУР направлен не только на удаление опухолевой ткани, но и на формирование раневого дефекта с последующим ремоделированием зоны роста удаленных образований, тем самым стимулируя преобразование компонентов инфильтрата стромальных тканей в воспалительные фенотипы (особенно важно преобразование макрофагов до типа M2b). Опухолевые клетки, поврежденные аблацией, высвобождают молекулярные паттерны, связанные с повреждением, и опухолевые антигены, которые способствуют инфильтрации иммунными клетками, усиливающими в свою очередь противоопухолевый ответ [36].

В исследовании Y. Kimura et al. *in vitro* 2023 года [37] авторы акцентировали внимание на понимании активности макрофагов в РМП после аблации с помощью необратимой электропорации и влияния секреции трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGF-β1) этими клетками на остаточные атипичные клетки в микроокружении опухоли. Образцы биопсий для работы включали как первичные, так и рецидивные опухоли у пациентов с уротелиальным РМП, проходивших аблационную терапию. Другая часть данных была получена на материале клеточной линии мышечного уротелиального рака. Иммуногистохимический

анализ показал, что в рецидивирующих новообразованиях наблюдается двукратное увеличение числа CD8+ Т-клеток, а также повышение количества CD68+ ТАМ и уровня TGF-β1 по сравнению с показателями при первичной биопсии. Сравнение образцов биопсии от одного и того же пациента показало 37% увеличение числа макрофагов CD68+ и 42% увеличение клеток, окрашенных положительно на TGF-β1. Идея работы предоставляет понимание взаимосвязи хирургического метода лечения и мезенхимного микроокружения атипичных тканей, но малый объем выборки не дает полноты статистической картины.

В недавней работе, опубликованной в журнале Medical Oncology в 2024 году, авторы прицельно изучали образцы МНРМП высокого риска, резистентные к БЦЖ-терапии и внутривезикулярной химиотерапии. Был проведен сравнительный анализ иммунореактивности тканей РМП до и после иммуномодулирующей терапии OncoTherad® (MRB-CFI-1) со сроком наблюдения 24 месяца, имеющей патенты в Соединенных Штатах и в Бразилии. Данный метод терапии основан на активации врожденного иммунитета через TLR2 и TLR4, запускающих стимуляцию сигнального пути IFN (Stimulator of Interferon Genes, STING), что приводит к увеличению продукции IFN-α и IFN-γ и подавляет экспрессию рецептора активатора лиганда и активатора ядерного фактора κB (RANK-L и RANK), способствуя предотвращению образования метастазов и замедлению прогрессирования заболевания [38, 39]. По результатам работы образцы опухолей после терапии показали снижение количества CD163+ ТАМ, яркое иммуногистохимическое окрашивание с IFN-γ, прямо коррелирующее с высокой инфильтрацией CD8+ Т-клетками. В результате лечения наблюдалось заметное снижение гистологической стадии, очаговости и размера опухоли. Таким образом, терапия, направленная на стимуляцию иммунного ответа резистентных к БЦЖ-терапии и внутривезикулярной химиотерапии опухолей, привела к значительно повышению безрецидивной скорости выживаемости и полному патоморфологическому ответу у 70% выборки [40, 41].

CD163 является членом суперсемейства SRCR, выявляется только в моноцитах и макрофагах, связан с поляризацией нормальных макрофагов в иммуноподавляющий тип (M2). В работе F. Aljabery 2023 года белок CD163 изучался в паре с крайне важным белком клеточного цикла p53, который связан с худшей выживаемостью и высокой злокачественностью опухолей. Являясь белком-супрессором опухолей, p53 реагирует на различные клеточные стрессы, регулируя экспрессию целевых генов, вызывая остановку клеточного цикла (апоптоз), старение, восстановление ДНК или изменения метаболизма. Мутации в этом гене ассоциированы с различными видами рака у человека [42]. В МНРМП и МНРМП высокого риска выявлено наличие мутации обратной транскриптазы теломеразы (telomerase reverse transcriptase, TERT). Положительная

иммуногистохимическая реакция p53 коррелировала с более коротким временем до прогрессирования опухоли ($p=0,03$) [43]. Понимая, что p53 и CD163 указывают на ухудшение прогноза, F. Aljabery et al. проследили зависимость между мутационной нагрузкой и иммунным профилем в МИРМП. У пациентов с CD163+/P53+ опухолевый статус характеризовался отсутствием отдаленных метастазов и выхода за пределы первичной локализации. Авторы объясняют этот неожиданный феномен возможным защитным эффектом M2-TAM в опухолях, клетки которых имеют p53+ окрашивание, что требует дальнейшего изучения [44]. Неоднозначность роли мутационного пути p53 в РМП отмечалась в работе J.S. Damrauer в 2021 году. Сравнив биологическую эффективность (прогноз выживаемости без рецидивов) выявленной ранее общей сигнатуры экспрессии генов, ассоциированной с потерей белка p53, в опухолях молочной железы, и оценки сигнального пути p53 на основе РНК в РМП, J.S. Damrauer показал отсутствие связи между наличием сигнатуры этих генов и рецидивом РМП после БЦЖ-терапии [45]. Таким образом, связь пути p53 с прогрессированием вторичного МИРМП остается неясной.

По статистике эпителиальные опухоли уротелиального тракта преобладают у мужчин, однако данный фактор и его связь с характеристиками компонентов опухолевой ткани и стромы не изучались прицельно. Изучив полные транскриптомные профили опухолей из когорты UROMOL [46] пациентов мужского ($n=357$) и женского ($n=103$) пола с учетом числа иммунных регуляторных генов и пространственной организации иммунных клеток в опухолях, на это обратили внимание S. Chenard et al. в 2021 году [47]. Из множества клеток только CD163⁺M2 TAM продемонстрировали статистически значимые различия в плотности и локализации между опухолями как низкой, так и высокой степени злокачественности: более высокая инфильтрация наблюдалась у пациентов женского пола (в сравнении с пациентами мужского пола) в эпителии низкодифференцированных опухолей ($p=0,012$), а также в эпителии и строме высокодифференцированных опухолей ($p=0,001$ и $p<0,001$ соответственно). У пациентов, у которых рецидив произошел в течение одного года, была выявлена значительно более высокая плотность CD163⁺ TAM, чем у мужчин, что приводит к плохим клиническим исходам. Помимо полученных данных результатом работы стало различие в экспрессии гена, кодирующего белок PD-L1 между полами (преобладает у лиц женского пола). Таким образом, биологический пол пациента стал важным фактором в определении ответа на современные методы иммунотерапии (блокаторы иммунных контрольных точек анти-PD-1/PD-L1) [47].

Как было показано ранее, TAM напрямую способствуют ангиогенезу [9]. J. Prakash [7] отмечал положительную корреляцию между инфильтрацией TAM и высокой степенью васкуляризации опухолей таких

локализаций как лимфоидная ткань, легкие и поджелудочная железа, а также сопутствующую сильную связь между увеличенным количеством TAM и сниженной безрецидивной выживаемостью. Коллектив авторов из Японии в 2016 году изучал соотношение TAM со степенью ангиогенеза перитуморальной стромы в выборке поверхностно-распространяющихся РМП (pTa, pT1) с использованием иммуногистохимического метода. Были отобраны первичные и рецидивирующие РМП без химиотерапии и радиотерапии, полученные методом ТУР. Среднее отношение CD68+/CD34+ было значительно выше в поверхностно-распространяющихся РМП (pTa, pT1), чем в МИРМП, в которых преобладало среднее соотношение CD163+/CD68+. Результаты подтверждены корреляционным тестом Спирмена: положительная корреляция ($r^2=0,25$) между количеством TAM (CD163+/CD68+) и количеством микрососудов (CD34), что подтверждает их тесную взаимосвязь с ангиогенезом опухоли [48]. В обзорной статье G. Elayat et al. [49] обобщены данные литературы, подтверждающие выводы H. Takeuchi et al. [48]. Модуляция M2-TAM активности фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) признано является одним из ведущих механизмов ангиогенеза опухолей. В исследовании В. Рябова и соавт. [23] также было сфокусировано внимание на прогностическом маркере VEGF-A, наиболее охарактеризованном TAM-производном цитокине, вовлеченном в ангиогенез: макрофаги внесли значительный вклад в высвобождение VEGF и усилили ангиогенный ответ. В работе L.A. Wang et al. [50] отмечена взаимосвязь между интенсивностью окрашивания VEGF-A в цитоплазме опухолевых клеток и степенью инфильтрации стромы опухоли CD163⁺ TAM ($p<0,001$), которая в свою очередь положительно коррелирует со степенью злокачественности РМП ($p=0,005$). Авторы признают необходимость дальнейших исследований ангиогенной активности опухолей для оценки потенциала TAM в качестве терапевтических мишеней для увеличения количества доступных неинвазивных (малоинвазивных) биомаркеров. Актуальность анализа ангиогенных факторов пациентов с уротелиальным раком, их связь с клинико-прогностическими данными являются актуальным научным заданием для будущих исследований.

Заключение

Опухоль-ассоциированные макрофаги на ранних этапах канцерогенеза рака мочевого пузыря препятствуют распространению атипичных клеток, а на поздних, наоборот, стимулируют рост первичной опухоли и способствуют метастазированию. Молекулярный портрет опухоль-ассоциированных макрофагов изменяется под влиянием различных факторов (молекулярно-генетические особенности опухоли, терапевтические подходы).

Актуальность исследования маркеров-мишеней опухоль-ассоциированных макрофагов основана на относительной противоречивости результатов оригинальных исследований.

нальных исследований, незначительном числе отечественных работ, данных о корреляции высокой инфильтрации CD163+ макрофагов с худшей выживаемостью, сниженным числом CD8+ Т-клеток и, как следствие, отсутствием эффективности химиотерапии и терапии бациллой Кальметта–Герена. Требуется уточнить оправданность назначения данных методов лечения перед операционным вмешательством или выбором альтернативного метода лечения с учетом важности органосохраняющих стратегий современной хирургии, а также выявить прогностически значимые маркеры для расширения диагностических возможностей с учетом малоинвазивных и неинвазивных методов диагностики и контроля рецидива.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Damaj N, Naim N, Saad A, Kattan C, Kattan J. Management of bladder cancer recurrence following the trimodality therapy. *Front Oncol.* 2025;15:1672431. DOI: 10.3389/fonc.2025.1672431.
2. Новиков Р.В., Новиков С.Н., Новиков А.И., Петров С.Б., Проценко С.А., Протошак В.В. и др. Руководство по тримодальной терапии рака мочевого пузыря (Невский консенсус 2021 г.). Онкоурология. 2022;18(2):142–163. DOI: 10.17650/1726-9776-2022-18-2-142-163.
Novikov RV, Novikov SN, Novikov AI, Petrov SB, Protsenko SA, Protoshchak VV et al. Guideline on trimodal therapy of bladder cancer (Nevskiy consensus 2021). *Onkourologiya = Cancer Urology.* 2022;18(2):142–163 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2022-18-2-142-163.
3. Pazır Y, Esmeray A, Gelmiş M, Caglar U, Ozgor F, Sarılar O et al. Performance of the EORTC and CUETO models to predict recurrence and progression in high-risk non-muscle-invasive bladder cancer patients. *Urol J.* 2024;21(3):169–74. DOI: 10.22037/uj.v20i.7854.
4. Xylinas E, Kent M, Kluth L, Pycha A, Comploj E, Svatek RS et al. Accuracy of the EORTC risk tables and of the CUETO scoring model to predict outcomes in non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Br J Cancer.* 2013;109(6):1460–6. DOI: 10.1038/bjc.2013.372.
5. Subiela JD, Krajewski W, González-Padilla DA, Laszkiewicz J, Taborda J, Aumatell J et al. Unlocking the potential of adequate Bacillus Calmette–Guérin immunotherapy in very-high-risk non-muscle-invasive bladder carcinoma: a multicenter analysis of oncological outcomes and risk dynamics. *Eur Urol Oncol.* 2024;7(6):1367–75. DOI: 10.1016/j.euo.2024.01.017.
6. Di Spirito A, Balkhi S, Vivona V, Mortara L. Key immune cells and their crosstalk in the tumor microenvironment of bladder cancer: insights for innovative therapies. *Explor Target Antitumor Ther.* 2025;6:1002304. DOI: 10.37349/etat.2025.1002304.
7. J Prakash (ed.). The tumor stroma: biology and therapeutics. New York: Jenny Stanford Publishing, 2022. 446 p. DOI: 10.1201/9781003224921.
8. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 2014;41(1):14–20. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
9. Poh AR, Ernst M. Targeting macrophages in cancer: from bench to bedside. *Front Oncol.* 2018;8:49. DOI: 10.3389/fonc.2018.00049.
10. Wang LX, Zhang SX, Wu HJ, Rong XL, Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *J Leukoc Biol.* 2019;106(2):345–58. DOI: 10.1002/JLB.3RU1018-378RR.
11. Liu L, Stokes JV, Tan W, Pruett SB. An optimized flow cytometry panel for classifying macrophage polarization. *J Immunol Methods.* 2022;511:113378. DOI: 10.1016/j.jim.2022.113378.
12. Zhang S, Xu X, Zhang K, Lei C, Xu Y, Zhang P et al. Targeting OAS3 for reversing M2d infiltration and restoring anti-tumor immunity in pancreatic cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2025;74(1):37. DOI: 10.1007/s00262-024-03898-w.
13. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(7):399–416. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.217.
14. Гладков О.А., Зуков Р.А., Мамвеев В.Б., Митин Т., Носов Д.А., Попов А.М. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака мочевого пузыря. Злокачественные опухоли. 2022;12(3s2-1):589–606. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-589-606.
Gladkov OA, Zukov RA, Matveev VB, Mitin T, Nosov DA, Popov AM. Practical guidelines for pharmacological treatment of bladder cancer. *Malignant tumors.* 2022;12(3s2-1):589–606 (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s2-589-606.
15. Chen J, Gao L, Wu X, Fan Y, Liu M, Peng L et al. BCG-induced trained immunity: history, mechanisms and potential applications. *J Transl Med.* 2023;21(1):106. DOI: 10.1186/s12967-023-03944-8.
16. Babjuk M, Burger M, Compérat EM, Gontero P, Mostafid AH, Palou J et al. European Association of Urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ) – 2019 Update. *Eur Urol.* 2019;76(5):639–57. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.08.016.
17. Martínez-López MF, de Almeida CR, Fontes M, Mendes RV, Kaufmann SHE, Fior R. Macrophages directly kill bladder cancer cells through TNF signaling as an early response to BCG therapy. *Dis Model Mech.* 2024;17(8):dmm050693. DOI: 10.1242/dmm.050693.
18. Pichler R, Fritz J, Zavadi C, Schäfer G, Culig Z, Brunner A. Tumor-infiltrating immune cell subpopulations influence the oncologic outcome after intravesical Bacillus Calmette–Guérin therapy in bladder cancer. *Oncotarget.* 2016;7(26):39916–30. DOI: 10.18632/oncotarget.9537.
19. Sharifi L, Nowroozi MR, Amini E, Arami MK, Ayati M, Mohsenzadegan M. A review on the role of M2 macrophages in bladder cancer; pathophysiology and targeting. *Int Immunopharmacol.* 2019;76:105880. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.105880.
20. Boström MM, Irjala H, Mirtti T, Taimen P, Kauko T, Ålgars A et al. Tumor-associated macrophages provide significant prognostic information in urothelial bladder cancer. *PLoS One.* 2015;10(7):e0133552. DOI: 10.1371/journal.pone.0133552.

21. Li J, Liu J, Wang H, Ma J, Wang Y, Xu W. Single-cell analyses *EMP1* as a marker of the ratio of M1/M2 macrophages is associated with EMT, immune infiltration, and prognosis in bladder cancer. *Bladder (San Franc)*. 2023;10:e21200011. DOI: 10.14440/bladder.2023.852.
22. Maniecki MB, Etzerodt A, Ulhøi BP, Steiniche T, Borre M, Dyrskjøt L et al. Tumor-promoting macrophages induce the expression of the macrophage-specific receptor CD163 in malignant cells. *Int J Cancer*. 2012;131(10):2320–31. DOI: 10.1002/ijc.27506.
23. Riabov V, Gudima A, Wang N, Mickley A, Orekhov A, Kzhyshkowska J. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *Front Physiol*. 2014;5:75. DOI: 10.3389/fphys.2014.00075.
24. Liu T, Larionova I, Litviakov N, Riabov V, Zavyalova M, Tsyganov M et al. Tumor-associated macrophages in human breast cancer produce new monocyte attracting and pro-angiogenic factor YKL-39 indicative for increased metastasis after neoadjuvant chemotherapy. *Oncoimmunology*. 2018;7(6):e1436922. DOI:10.1080/2162402X.2018.1436922.
25. Viveiros N, Flores BC, Lobo J, Martins-Lima C, Cantante M, Lopes P et al. Detailed bladder cancer immunoprofiling reveals new clues for immunotherapeutic strategies. *Clin Transl Immunology*. 2022;11(9):e1402. DOI: 10.1002/cti2.1402.
26. Litviakov N, Tsyganov M, Larionova I, Ibragimova M, Deryusheva I, Kazantseva P et al. Expression of M2 macrophage markers YKL-39 and CCL18 in breast cancer is associated with the effect of neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2018;82(1):99–109. DOI: 10.1007/s00280-018-3594-8.
27. Sjö Dahl G, Lövgren K, Lauss M, Chebil G, Patschan O, Gudjonsson S et al. Infiltration of CD3+ and CD68+ cells in bladder cancer is subtype specific and affects the outcome of patients with muscle-invasive tumors. *Urol Oncol*. 2014;32(6):791–7. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.02.007.
28. Kamitani R, Tanaka N, Anno T, Murakami T, Masuda T, Yasumizu Y et al. Tumor immune microenvironment dynamics and outcomes of prognosis in non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer Science*. 2024;115(12):3963–72. DOI: 10.1111/cas.16333.
29. Stakhovskiy O, Kobylak N, Voylenko O, Stakhovskiy E, Ponomarchuk R, Sulaieva O. Immune microenvironment of muscular-invasive urothelial carcinoma: the link to tumor immune cycle and prognosis. *Cells*. 2022;11(11):1802. DOI: 10.3390/cells11111802.
30. Singh A, Kumari M, Haldar D, Kumari R Sr, Ranjan N, Prasad R. Evaluation of the expression of programmed death-ligand 1 and its role in differentiating low-grade and high-grade urothelial carcinoma. *Cureus*. 2024;16(6):e62567. DOI: 10.7759/cureus.62567.
31. Sun M, Zeng H, Jin K, Liu Z, Hu B, Liu C et al. Infiltration and polarization of tumor-associated macrophages predict prognosis and therapeutic benefit in muscle-invasive bladder cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2022;71(6):1497–506. DOI: 10.1007/s00262-021-03098-w.
32. Lee J, Heo JE, Kang SK, Lee KS, Han H, Jang WS et al. Noninvasive studies may have potential to replace cystoscopy in non-muscle invasive bladder cancer follow-up. *Sci Rep*. 2022;12(1):21677. DOI: 10.1038/s41598-022-23111-1.
33. Executive Management Group, Mathias Uhlén. The Human Protein Atlas. 2003. Available from: <https://www.proteinatlas.org> (accessed 14.11.2025).
34. Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol*. 2000;7(7):263–9. DOI: 10.1046/j.1442-2042.2000.00190.x.
35. Boström MM, Irjala H, Mirtti T, Taimen P, Kauko T, Ålgars A et al. Tumor-associated macrophages provide significant prognostic information in urothelial bladder cancer. *PLoS ONE*. 2015;10(7):e0133552. DOI: 10.1371/journal.pone.0133552.
36. van den Bijgaart RJE, Schuurmans F, Fütterer JJ, Verheij M, Cornelissen LAM, Adema GJ. Immune modulation plus tumor ablation: adjuvants and antibodies to prime and boost anti-tumor immunity in situ. *Front Immunol*. 2021;12:617365. DOI: 10.3389/fimmu.2021.617365.
37. Kimura Y, Fujimori M, Rajagopalan NR, Poudel K, Kim K, Nagar K et al. Macrophage activity at the site of tumor ablation can promote murine urothelial cancer via transforming growth factor-β1. *Front Immunol*. 2023;14:1070196. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1070196.
38. Alonso JCC, de Souza BR, Reis IB, de Arruda Camargo GC, de Oliveira G, de Barros Frazão Salmazo MI et al. OncoTherad® (MRB-CFI-1) nanoimmunotherapy: a promising strategy to treat Bacillus Calmette-Guérin-unresponsive non-muscle-invasive bladder cancer: crosstalk among T-cell CX3CR1, immune checkpoints, and the Toll-like receptor 4 signaling pathway. *Int J Mol Sci*. 2023;24(24):17535. DOI: 10.3390/ijms242417535.
39. Reis IB, Tibo LHS, Socca EAR, de Souza BR, Durán N, Fávaro WJ. OncoTherad® (MRB-CFI-1) nano-immunotherapy reduced tumoral progression in non-muscle invasive bladder cancer through activation of Toll-like signaling pathway. *Tissue Cell*. 2022;76:101762. DOI: 10.1016/j.tice.2022.101762.
40. de Arruda Camargo GC, Oliveira G, Santos BNS, Roberto IM, Ávila M, de Souza BR et al. Modulation of the tumor microenvironment in non-muscle-invasive bladder cancer by OncoTherad® (MRB-CFI-1) nanoimmunotherapy: effects on tumor-associated macrophages, tumor-infiltrating lymphocytes, and monoamine oxidases. *Med Oncol*. 2024;41(11):287. DOI: 10.1007/s12032-024-02533-z.
41. Kawada T, Yanagisawa T, Rajwa P, Motlagh RS, Mostafaei H, Quhal F et al. The prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes after radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genitourin Cancer*. 2024;22(2):535–43.e4. DOI: 10.1016/j.clgc.2024.01.008.
42. Lim DV, Woo WH, Lim JX, Loh XY, Soh HT, Lim SYA et al. Targeting mutant-p53 for cancer treatment: are we there yet? *Curr Mol Pharmacol*. 2024;17:e140923221042. DOI: 10.2174/1874467217666230914090621.
43. Jahnson S, Söderkvist P, Aljabery F, Olsson H. Telomerase reverse transcriptase mutation and the p53 pathway in T1 urinary bladder cancer. *BJU Int*. 2022;129(5):601–9. DOI: 10.1111/bju.15490.
44. Aljabery F, Shabo I, Saudi A, Holmbom M, Olson H, Jahnson S. The emerging role of cell cycle protein p53 expression by tumor cells and M2-macrophage infiltration in urinary bladder

- cancer. *Urol Oncol*. 2023;41(3):148.e9–16. DOI: 10.1016/j.urolonc.2022.12.005.
45. *Damrauer JS, Roell KR, Smith MA, Sun X, Kirk EL, Hoadley KA et al.* Identification of a novel inflamed tumor microenvironment signature as a predictive biomarker of Bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in non-muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res*. 2021;27(16):4599–609. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-0205.
 46. *Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, Algaba F, Høyer S, Ulhøi BP et al.* Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell*. 2016;30(1):27–42. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.05.004.
 47. *Chenard S, Jackson C, Vidotto T, Chen L, Hardy C, Jamaspi-shvilli T et al.* Sexual dimorphism in outcomes of non-muscle-invasive bladder cancer: a role of CD163⁺ macrophages, B cells, and PD-L1 immune checkpoint. *Eur Urol Open Sci*. 2021;29:50–8. DOI: 10.1016/j.euros.2021.05.002.
 48. *Takeuchi H, Tanaka M, Tanaka A, Tsunemi A, Yamamoto H.* Predominance of M2-polarized macrophages in bladder cancer affects angiogenesis, tumor grade and invasiveness. *Oncol Lett*. 2016;11(5):3403–38. DOI: 10.3892/ol.2016.4392.
 49. *Elayat G, Punev I, Selim A.* An overview of angiogenesis in bladder cancer. *Curr Oncol Rep*. 2023;25(7):709–28. DOI: 10.1007/s11912-023-01421-5
 50. *Wang LA, Yang B, Tang T, Yang Y, Zhang D, Xiao H et al.* Correlation of APE1 with VEGFA and CD163⁺ macrophage infiltration in bladder cancer and their prognostic significance. *Oncol Lett*. 2020;20(3):2881–7. DOI: 10.3892/ol.2020.11814.

Информация об авторах

Ирина Николаевна Сычева – аспирантка кафедры физиологии и патологии факультета фундаментальной медицины, врач-патологоанатом отдела клинической патологии Университетской клиники МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Нина Александровна Олейникова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры физиологии и патологии факультета фундаментальной медицины, старший научный сотрудник отдела клинической патологии Университетской клиники МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Наталья Владимировна Данилова – доктор медицинских наук, доцент кафедры физиологии и патологии факультета фундаментальной медицины, старший научный сотрудник отдела клинической патологии Университетской клиники МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Author information

Irina N. Sycheva – Postgraduate Student, Department of Physiology and Pathology, Faculty of Fundamental Medicine, Pathologist, Department of Clinical Pathology, University Clinic, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University. <http://orcid.org/0009-0004-3905-8709>

Nina A. Oleynikova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Physiology and Pathology, Faculty of Fundamental Medicine, Senior Researcher, Department of Clinical Pathology, University Clinic, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University. <http://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Natalia V. Danilova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Physiology and Pathology, Faculty of Fundamental Medicine, Senior Researcher, Department of Clinical Pathology, University Clinic, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University. <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Морфологические и иммуногистохимические маркеры оценки эффективности терапии полифенолами и антоцианами в моделях атопического дерматита

Д.И. Петров^{1,2}, Л.В. Вихарева¹, С.Л. Матусевич¹

¹ ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, Тюмень, Россия

² ГАУЗ ТО Областной кожно-венерологический диспансер, Тюмень, Россия

Резюме. Атопический дерматит – хронический воспалительный дерматоз, в основе которого лежат комплексное повреждение эпидермального барьера и формирование опосредованного Т-хелперами 2-го типа воспаления. Морфологически это проявляется нарушением терминальной дифференцировки кератиноцитов, перестройкой рогового слоя, снижением экспрессии филаггрина и клаудина-1, а также формированием дермального воспалительного инфильтрата и признаками оксидативного повреждения. Растительные полифенолы, включая антоцианы, рассматриваются как мультитаргетные модуляторы, способные одновременно ослаблять воспалительную активность, усиливать антиоксидантный ответ и поддерживать восстановление барьерных структур эпидермиса. В обзоре систематизированы морфологические и иммуногистохимические маркеры, применяемые в экспериментальных моделях атопического дерматита, приводятся данные о влиянии полифенолов и антоцианов на толщину эпидермиса, выраженность его межклеточного отека, инфильтрацию, содержание барьерных белков и баланс окислительно-восстановительных реакций. Отдельное внимание уделено постановке исследовательской задачи по разработке стандартизованных дерматотропных средств из растительного сырья, включая *Epilobium (Chamerion) angustifolium* L., и требованиям к доклинической верификации их тканевых эффектов.

Ключевые слова: атопический дерматит, эпидермальный барьер, филаггрин, клаудин-1, Nrf2/HO-1, антоцианы

Для корреспонденции: Даниил Иванович Петров. E-mail: fatsplat@mail.ru

Для цитирования: Петров Д.И., Вихарева Л.В., Матусевич С.Л. Морфологические и иммуногистохимические маркеры оценки эффективности терапии полифенолами и антоцианами в моделях атопического дерматита. Клини. эксп. морфология. 2026;15(3):15–24. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.15-24.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 19.01.2026. Получена после рецензирования 28.01.2026. Принята в печать 16.02.2026.

Morphological and immunohistochemical markers for evaluating the effects of polyphenols and anthocyanins in experimental models of atopic dermatitis

D.I. Petrov^{1,2}, L.V. Vikhareva¹, S.L. Matusevich¹

¹ Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

² Tyumen Regional Dermatology and Venereology Outpatient Clinic, Tyumen, Russia

Abstract. Atopic dermatitis is a chronic inflammatory dermatosis characterized by complex impairment of the epidermal barrier and the development of Th2-mediated inflammation. Morphologically, these changes are manifested by disturbed terminal differentiation of keratinocytes, remodeling of the stratum corneum, reduced expression of filaggrin and claudin-1, as well as the formation of a dermal inflammatory infiltrates and signs of oxidative damage. Plant polyphenols, including anthocyanins, are regarded as multi-target modulators capable of simultaneously attenuating inflammatory activity, enhancing the antioxidant defense, and promoting restoration of epidermal barrier structures. This review systematizes the morphological and immunohistochemical markers used in experimental models of atopic dermatitis and summarizes current data on the effects of polyphenols and anthocyanins on epidermal thickness, the severity of epidermal inter-

cellular edema and dermal inflammatory infiltrates, the expression of barrier proteins, and cutaneous redox homeostasis. Special attention is paid to framing *Epilobium (Chamerion) angustifolium* L. (fireweed) as a promising subject for future research aimed at the development of standardized dermatotropic formulations and the identification of preclinical endpoints, rather than as a source of established evidence of efficacy in experimental models of atopic dermatitis.

Keywords: atopic dermatitis, epidermal barrier, filaggrin, claudin-1, Nrf2/HO-1, anthocyanins

Corresponding author: Daniil I. Petrov. E-mail: fatsplat@mail.ru

For citation: Petrov D.I., Vikhareva L.V., Matusevich S.L. Morphological and immunohistochemical markers for evaluating the effects of polyphenols and anthocyanins in experimental models of atopic dermatitis. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)15–24 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.15-24.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 19.01.2026. **Received in revised form** 28.01.2026. **Accepted** 16.02.2026.

Введение

Атопический дерматит (АД) – распространенное хроническое воспалительное заболевание кожи, сопровождающееся зудом, нарушением сна и снижением качества жизни [1, 2]. Современная базисная и таргетная терапия расширила возможности контроля АД, однако сохраняется запрос на безопасные адьювантные препараты длительного применения [3–6]. В этом контексте барьер-ориентированный подход важен с позиции ключевого патогенетического звена и морфологического подтверждения эффективности. Последнее возможно за счет оценки воспроизводимых признаков изменения рогового и зернистого слоев, нарушения дифференцировки кератиноцитов, дефектов межклеточных контактов, динамики воспалительной и сосудистой реакции [7, 8].

Цель настоящего обзора – на основании анализа данных о морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) проявлениях АД обосновать оптимальную панель маркеров оценки состояния эпидермального барьера, Th2-воспаления (воспаления 2-го типа), окислительного статуса кожи при разработке дерматотропных средств [9–14]. Практический интерес представляет оценка возможности использования отечественных источников полифенолов и антоцианов на основе доступного растительного сырья.

Эпидермальный барьер при АД: структура и морфологические проявления

Эпидермальный барьер формируется роговым слоем, где корнеоциты, окруженные липидным матриксом, обеспечивают механическую и химическую защиту, удержание воды и поддержание кислотности на уровне 5,4–5,9. Нарушение дифференцировки кератиноцитов является одной из наиболее устойчивых характеристик АД и сопровождается снижением количества филагрина (filaggrin, FLG), что приводит к уменьшению содержания натурального увлажняющего фактора (natural moisturizing factor, NMF), изменению гидратации и pH поверхности кожи, повышению проницаемости и трансэпидермальной потери воды [15]. Вносят вклад и нарушения липидного состава рогового слоя, в част-

ности дисбаланс церамидов и ферментов их синтеза, что напрямую влияет на организацию межклеточного матрикса и устойчивость к внешним воздействиям [16, 17].

Помимо рогового слоя существенную роль в обеспечении барьерной функции играют верхние слои эпидермиса, формируемые плотными контактами (tight junctions, TJ). Они локализируются преимущественно в зернистом слое и обеспечивают парацеллюлярный транспорт. Ключевой белок, наиболее часто анализируемый при АД, – клаудин-1 (claudin-1, CLDN1). Снижение интенсивности и непрерывности мембранного ИГХ-окрашивания клаудина-1, а также нарушение его мембранной локализации ассоциированы с повышенной проницаемостью эпидермиса и тяжестью АД [8, 18, 19].

С морфологической позиции важно, что TJ-дефект может проявляться не только количественным снижением окрашивания, но и «мозаичностью» распределения белка в зернистом слое, что требует стандартизованного подхода к оценке ИГХ-препаратов.

Классическая гистологическая картина АД включает сочетание эпидермальных и дермальных изменений. На уровне эпидермиса выявляют гиперкератоз, акантоз (утолщение шиповатого слоя с удлинением эпидермальных выростов) различной выраженности и спонгиоз (отек эпидермиса с расширением межклеточных пространств), возможны очаговые признаки экссудации. В дерме наблюдаются периваскулярные или диффузные лимфогистиоцитарные инфильтраты, часто с примесью эозинофилов и тучных клеток, а также сосудистая реакция [7, 20].

Кроме нарушений рогового слоя и TJ-барьера при АД страдают структуры межклеточной адгезии: адгезивные пояски (*zonula adherens*), основным компонентом которых является Е-кадгерин, и десмосомы (*macula adherens*), включающие десмосомальные кадгерин десмоглеин-1 и десмоглеин-3. В обзоре термин «десмосомы» используется как синоним *macula adherens*, тогда как контакты типа *zonula adherens* рассматриваются отдельно как адгезивные пояски. Нарушение организации этих структур при дерматозах

сопровождается межклеточным отеком и способствует формированию спонгиоза [14, 21]. На уровне дермы хроническое течение заболевания характеризуется ремоделированием коллагенового и эластического матрикса, утолщением сосочкового слоя и персистенцией периваскулярного инфильтрата, что тоже целесообразно рассматривать как дополнительные морфологические критерии [7, 10].

Данные изменения отражают дисбаланс между репаративной гиперпролиферацией (акантоз), нарушением межклеточной адгезии (спонгиоз) и хронической иммунной стимуляцией (инфильтрат и сосудистые изменения). Таким образом, оценка барьер-ориентированной терапии должна включать не только уменьшение воспалительного инфильтрата, но и восстановление дифференцировки эпидермиса, структуры рогового слоя и TJ-организации.

Иммунные механизмы барьерной недостаточности

Одним из центральных звеньев АД является Th2-опосредованное воспаление. Цитокины IL-4 и IL-13 через рецепторные комплексы, содержащие IL-4Rα, активируют JAK/STAT6-сигнальные пути (Janus kinases/signal transducer and activator of transcription 6) и меняют развитие кератиноцитов: снижается экспрессия филагтрина и ряда белков дифференцировки, ослабевает барьерная функция и одновременно усиливается продукция хемокинов, поддерживающих воспалительную инфильтрацию [22, 23]. Иммунный компонент при АД активно закрепляет барьерную недостаточность, что объясняет сохранение склонности к рецидивам у ряда пациентов даже на фоне регулярного применения смягчающих и увлажняющих средств (эмолентная терапия) и необходимо учитывать при разработке методов эффективной коррекции.

При нарушении барьерной функции кератиноциты также выделяют алармины (TSLP, IL-33, IL-25), которые активируют дендритные клетки и лимфоидные клетки (ILC2), поддерживая смещение иммунного ответа в сторону Th2. Такой эпителиально-иммунный контур усиливает воспаление и способствует хронизации патологического процесса [24].

В экспериментальных моделях АД именно уровень аларминов и их локальная экспрессия в эпидермисе могут отражать эффективность вмешательств, направленных на стабилизацию барьерной функции, даже при умеренном влиянии на системные показатели.

Наряду с JAK/STAT-осью существенную роль играют NF-κB (nuclear factor kappa B p65) и MAPK-пути (mitogen-activated protein kinases), которые активируются в ответ на цитокины, TLR-сигналы и микробные факторы. Хроническая активация NF-κB способствует экспрессии провоспалительных медиаторов, ферментов и молекул адгезии, поддерживая инфильтрацию дермы и сосудистую реакцию [25]. MAPK-каскады (ERK, p38, JNK) участвуют в регуляции пролифера-

ции и продукции цитокинов, что морфологически может проявляться устойчивым акантозом и ремоделированием [23]. С точки зрения выбора мишеней для природных соединений это важно потому, что многие полифенолы способны оказывать умеренное, но многопрофильное влияние на эти механизмы.

Отдельного рассмотрения заслуживает зуд – ключевой симптом АД, который не сводится к субъективному ощущению. IL-31-зависимые пути формируют нейроиммунный механизм самоповреждения рогового слоя и усиления воспаления [26, 27].

Таким образом, при сохранении зуда и механических воздействиях даже выраженный противовоспалительный эффект не всегда обеспечивает долговременную стабилизацию, а при оценке экспериментальных средств целесообразно сопоставлять морфологические данные с поведенческими признаками зуда и функциональными показателями [28, 29]. Для наглядности основные морфологические признаки АД и локализация ключевых ИГХ-маркеров представлены на рисунке.

Дисбиоз кожи и *Staphylococcus aureus* как модификаторы морфологической картины

Понимание роли кожного микробиома за последние годы существенно углубилось, и дисбиоз при АД рассматривается как фактор, поддерживающий хроническое воспаление [30, 31]. Колонизация *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк) и микробные продукты могут активировать неспецифический иммунитет, усиливая воспаление, и нарушать барьерные структуры [32–34].

Для морфологической оценки важно, что микробный компонент способен менять качественный состав инфильтрата, влиять на выраженность экссудации и повреждения рогового слоя. Кроме того, устойчивость *Staphylococcus aureus* и биопленки потенциально объясняет часть случаев неполного ответа на терапию. Это делает оправданным включение в дизайн доклинических исследований маркеров, характеризующих микробиом кожи и учет антимикробного потенциала растительных экстрактов.

Окислительно-восстановительные процессы

Окислительный стресс при АД проявляется повышением уровней активных форм кислорода, усилением перекисного окисления липидов и накоплением продуктов повреждения. Это может напрямую ухудшать структуру липидного матрикса рогового слоя, усугублять воспаление и замедлять репарацию [25]. В морфологическом исследовании это целесообразно рассматривать как отдельный измеряемый блок, особенно если изучается действие антиоксидантно-активных соединений, к которым относятся полифенолы и антоцианы.

Ядерный фактор эритроидного происхождения 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor, 2Nrf2) – ключевой регулятор антиоксидантного ответа, контролирующий



Рис. Схема основных морфологических признаков и локализации ключевых иммуногистохимических маркеров при атопическом дерматите.

При атопическом дерматите регистрируется следующее: роговой слой – гиперкератоз, снижение содержания филаггрина и лорикрина (FLG/LOR); зернистый слой – снижение дифференцировки, снижение содержания клаудина-1 и белка плотных контактов (CLDN1/ZO-1); шиповатый/базальный слой – акантоз (утолщение шиповатого слоя, удлинение эпидермальных выростов), спонгиоз (межклеточный отек эпидермиса), DSG1/DSG3 (десмосомы), Nrf2 (ядро) и HO-1 (цитоплазма); дерма – периваскулярный/диффузный лимфогистиоцитарный инфильтрат ± эозинофилы, тучные клетки, сосудистая реакция, изменение содержания IL-4/IL-1β (pSTAT6), IL-31, CD3, MBP (эозинофилы)

Fig. Main morphological features and localization of key immunohistochemical markers in atopic dermatitis.

The following changes are observed: hyperkeratosis and reduced filaggrin and loricrin (FLG/LOR) expression in the stratum corneum; impaired keratinocyte differentiation and decreased claudin-1 and tight junction protein (CLDN1/ZO-1) expression in the stratum granulosum; acanthosis, spongiosis, altered DSG1/DSG3 expression, and changes in Nrf2 and HO-1 localization in the stratum spinosum/stratum basale; and perivascular and/or diffuse lymphohistiocytic infiltrates with ± eosinophils and vascular response in the dermis, accompanied by altered IL-4/IL-1β (pSTAT6), IL-31, CD3, and MBP expression

активность гемоксигеназы-1 (heme oxygenase-1, HO-1) и других цитопротективных ферментов. Модуляция Keap1/Nrf2-системы рассматривается как перспективный подход при воспалительных заболеваниях кожи, включая АД [35–37].

С позиции ИГХ-анализа важно учитывать не только общую интенсивность Nrf2-окраски, но и признаки ядерной локализации как отражение активации транскрипционного ответа. В паре с этим логично оценивать HO-1 как функциональный маркер защитной реакции, что повышает доказательность выводов о модулирующем действии исследуемого средства.

Экспериментальные модели АД и стандарты морфологической оценки

Наиболее распространены гаптен-индуцированные (2,4-динитрохлорбензол – DNCB, 2,4-динитрофторбензол – DNFB, оксазолон) модели АД. Протоколы включают сенсибилизацию и повторные аппликации, приводящие к гиперкератозу, акантозу, спонгиозу и формированию дермального инфильтрата [10, 38, 39]. Эти модели удобны при разработке топических средств, поскольку позволяют напрямую сопоставлять клиническое улучшение с тканевыми изменениями

и ИГХ-маркерами барьера и воспаления. При этом их триггер (химическая сенсибилизация) и динамика процесса отличаются от клинического АД у человека, поэтому получаемые эффекты корректнее трактовать как доказательство тканевого механизма действия в выбранной модели, а не как прямое ранжирование клинической эффективности [10, 11, 38, 39].

MC903-индуцированная модель применима для анализа эпителиальных аларминов и Th2-активации, это делает ее полезной при изучении средств с предполагаемым влиянием именно на данные звенья патогенеза, но относится к экзогенно индуцированным протоколам, что следует учитывать при экстраполяции [10, 40]. NC/Nga-мыши представляют модель хронического течения АД-подобного дерматита, однако результаты зависят от условий содержания и микробной нагрузки. Тем не менее эта модель ценна при оценке длительных эффектов и продолжительности ремиссии [10].

Ограничения морфологической и иммуногистохимической оценки связаны с низкой сопоставимостью доклинических результатов, преимущественно из-за гетерогенности протоколов (модель, длительность, дозы, лекарственная форма), и различиями в глубине морфологического анализа, что требует заранее за-

данной панели маркеров и минимальной стандартизации оценки [10, 11, 38]. При морфометрии толщины эпидермиса важно фиксировать анатомическую зону и ориентацию среза, для ИГХ – задавать критерии мембранной «непрерывности» TJ-белков и отдельно учитывать ядерную или цитоплазматическую локализацию транскрипционных факторов (например, Nrf2). Для обеспечения сопоставимости при разработке дерматотропных средств целесообразно использовать унифицированный набор конечных точек, включающий клиническую оценку, гистологию и ИГХ. Наиболее практично рассматривать три уровня барьера: роговой слой, зернистый слой и воспалительно-нейроиммунный компонент. Если исследование нацелено на зуд и нейроиммунный компонент, целесообразно включать IL-31, маркеры нейрогенного воспаления и поведенческую оценку зуда (независимый подсчет по видеофиксации) [27, 28].

Растительные полифенолы и антоцианы при АД: механизмы действия и морфологические маркеры эффективности

Антоцианы рассматриваются как одна из наиболее перспективных групп полифенолов в дерматологии. Полифенолы объединяют широкий спектр растительных соединений, для которых описаны антиоксидантные и противовоспалительные эффекты. В контексте АД ключевым является их потенциал воздействовать на несколько узлов патогенеза одновременно: снижать активность NF-κB/MAPK, модулировать ответ через Nrf2-зависимые механизмы и опосредованно влиять на барьерные белки эпидермиса [9, 12]. Эта мультитаргетность особенно важна при хроническом дерматозе, где моноподнаправленное вмешательство может приводить к улучшению одного параметра, но не обеспечивать устойчивое восстановление барьерной функции.

При этом значимы ограничения интерпретации доклинических данных. Во-первых, для антоцианов и многих полифенолов характерны низкая системная биодоступность, быстрый метаболизм и выраженная зависимость эффектов от формы введения; во-вторых, антоцианы химически нестабильны (pH-зависимые превращения, чувствительность к свету/температуре/кислороду и ионам металлов), что влияет на фактическое содержание в тканях; в-третьих, при высоких дозах и определенных условиях полифенолы могут демонстрировать прооксидантное поведение, поэтому обязателен контроль дозы и маркеров эффективности [25, 40].

Антоцианы при АД действуют через цепочку ослабления окислительного повреждения – снижение провоспалительной активации – активация дифференцировки кератиноцитов и TJ-белков. На моделях дерматита показаны воспроизводимые морфологические эффекты: уменьшение толщины эпидермиса и индекса акантоза/спонгиоза, снижение площади дермального инфильтрата, частичное восстановление экспрессии

FLG и CLDN1, а также уменьшение таких маркеров оксидативного повреждения, как 4 гидроксинафталаль (4 hydroxynonenal, 4 HNE) и 8 гидроксигуанидин (8 hydroxy 2' deoxyguanosine, OHdG) [41, 42] на фоне активации Nrf2/HO-1 [43, 44]. Отдельно следует различать эффекты чистых соединений и многокомпонентных экстрактов: без стандартизации по маркерным компонентам и аналитического контроля партий причинно-следственная связь остается ограниченной [40, 45]. Прямое сравнение эффективности осложнено гетерогенностью протоколов, однако сопоставление по унифицированным конечным точкам позволяет выделить повторяющиеся эффекты различных классов полифенолов (табл. 1).

Наиболее частые причины несопоставимости: различия в дозах и форме доставки, разный протокол морфологического анализа и отсутствие ослепления при оценке ИГХ-препаратов, поэтому в таблице 1 отражается направление эффектов, а не ранжирование эффективности.

Лекарственная форма имеет принципиальное значение, поскольку стабильность и доступность полифенолов в тканях ограничены. Современные подходы включают использование гелей, гидрогелей и полимерных систем, обеспечивающих локальный контроль воспаления и оксидативного стресса и, как следствие, более выраженное тканевое улучшение [45, 49, 50].

Для практики разработки это означает, что при сравнении сырого экстракта и формулированного продукта морфологическая разница может быть значимой и должна учитываться при интерпретации результатов.

***Epilobium angustifolium* (кипрей узколистный) как источник полифенолов: постановка исследовательской задачи для моделей АД**

Кипрей узколистный (*Epilobium (Chamerion) angustifolium* L.) представляет интерес как источник полифенольных соединений (эллаготанины, флавоноиды; в отдельных работах — антоциановые фракции), потенциально релевантных барьер-ориентированным стратегиям при воспалительных дерматозах [51–53]. Если сопоставлять этот профиль с патогенезом АД, наиболее значимыми являются противовоспалительные и антиоксидантные свойства полифенолов [54, 55], а также возможный антимикробный эффект [56, 57]. Тем не менее опубликованные данные о его эффективности именно в стандартизованных моделях АД на текущий момент ограничены, поэтому последующий текст следует рассматривать как постановку исследовательской задачи: какие маркеры, модели и критерии качества нужны, чтобы перевести фитохимические / *in vitro* наблюдения в доклинически доказуемый тканевой эффект [58, 59].

Перевод растительного сырья в препарат, пригодный для доклинического и затем клинического обоснования, требует стандартизации состава и валидации. Для полифенольных и антоциан-богатых экстрактов

Таблица 1 | Table 1

**Сравнительная характеристика эффектов полифенолов в экспериментальных моделях атопического дерматита |
Comparative evaluation of polyphenols in experimental models of atopic dermatitis**

Класс препаратов (модель) Class of compounds (model)	Воспаление: NF-κB/MAPK; JAK/STAT6 Inflammatory pathways: NF-κB/MAPK; JAK/STAT6	Морфология: толщина эпидермиса; акантоз/спонгиоз; инфильтрат Morphological changes: epidermal thickness; acanthosis/spongiosis; infiltrate	Барьерная функция: FLG; CLDN1; TJ Barrier function: FLG; CLDN1; TJ	Окислительно-восстановительные реакции: 4-HNE/8-OHdG, Nrf2/HO-1 Redox status: 4-HNE/8-OHdG, Nrf2/HO-1	Ограничения Limitations
Антоцианы (DNCB, оксазолон) Anthocyanins (DNCB, oxazolone) [9, 12, 41, 42]	↓ / Нет данных No data available	↓ / ↓ / ↓	↑ / ↑ / 0	↓ / ↑	Нет стандартизации состава, дозы, формы препарата; гетерогенность панели маркеров; открытое Lack of standardization of composition, dose, and formulation; heterogeneity of marker panels; open label design
Смеси полифенолов из растительных экстрактов (DNCB) Plant extract-derived polyphenol mixtures (DNCB) [9, 12, 43]	↓ / Нет данных No data available	↓ / ↓ / ↓	Нет данных No data available / 0	↑ / ↓	Нет стандартизации состава, валидации партий, противоречия по TJ/FLG; открытое Lack of standardization of composition and batch validation, TJ/FLG expression; open-label design
Стилбены (DNCB) Stilbenes (DNCB) [46]	↓ Th2-цитокины Th2-cytokines	↓ / ↓ / ↓	↑ / ↑ / 0	0 / 0	Нет сопоставимости доз; разные режимы введения; открытое Lack of dose comparability; different administration regimens; open-label design
Куркуминоиды (DNCB) Curcuminoids (DNCB) [47, 48]	↓ / Нет данных No data available	↓ / ↓ / ↓	0 / 0 / 0	0 / 0	Нет сопоставимых конечных точек Lack of comparable endpoints
Системы доставки полифенолов/ флавоноидов (различные) Polyphenol/ flavonoid delivery systems (various models) [45, 49, 50]	↓ / Нет данных No data available	↓ / ↓ / ↓	Зависит от носителя и активного вещества Depends on the carrier and the active compound	↑ / ↓	Гетерогенность носителей и активных веществ, неполная химическая характеристика, эффект носителя трудно отделить от эффекта полифенола Heterogeneity of carriers and active compounds, incomplete chemical characterization, and difficulty distinguishing carrier effects from polyphenol-specific effects

↓ – снижение показателя, ↑ – повышение показателя. 0 – без значимых изменений | ↓ – decrease in the parameter, ↑ – increase in the parameter, 0 – no significant changes

критичны выбор части растения, сезон и регион заготовки, условия сушки и экстракции, а также контроль профиля маркерных компонентов методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией [54, 59].

Стандартизация позволит связать морфологическое улучшение с конкретной химической характеристикой экстракта и избежать низкой воспроизводимости между партиями. Для экстракта, ориентированного на адьювантную терапию АД, рационально выстроить доклиническую схему так, чтобы она отвечала требованиям доказательности: воспроизводимая модель (DNFB/DNFB или MC903), дозозависимая оценка, сравнение лекарственных форм, а также комплексная морфология и ИГХ-панель [10, 39, 40]. В таблице 2 приведен пример базовой минимальной панели маркеров, которая позволяет оценивать барьерную функцию, воспаление и выраженность окислительно-восстановительных реакций без чрезмерного расширения протокола.

Оценка клинической выраженности дерматита, морфометрия толщины эпидермиса и индекса акантоза/спонгиоза, полуколичественная оценка экспрессии FLG, CLDN1 и Nrf2/HO-1 (H-score), подсчет IL-4/IL-13- и IL-31-позитивных клеток, доли дермы, занятой воспалительным инфильтратом, а также маркеров оксидативного стресса (4-HNE или 8-OHdG) в стандартных

моделях DNFB/DNFB и MC903 позволяют оценить восстановление всех трех уровней барьера (роговой слой, TJ-барьер, воспалительно-нейроиммунный компонент) [10, 27, 39, 40].

Заключение

В обзоре систематизированы морфологические и иммуногистохимические маркеры для оценки терапевтической эффективности полифенолов и антоцианов в экспериментальных моделях атопического дерматита. Установлено, что растительные полифенолы регулируют воспалительные реакции, восстанавливают барьерные белки филаггрин и клаудин-1, активируют антиоксидантную систему Nrf2/HO-1. Рекомендуется панель маркеров для оценки барьер-ориентированной терапии, включая толщину эпидермиса, экспрессию TJ-белков и окислительный стресс. Показана необходимость стандартизации состава экстрактов и протоколов исследований. Антоцианосодержащее сырье, такое как *Epilobium (Chamerion) angustifolium* L., следует рассматривать как перспективную платформу для разработки стандартизованных дерматотропных препаратов на основе российского растительного сырья.

Таблица 2 | Table 2

Рекомендуемые морфологические и иммуногистохимические маркеры для оценки барьер-ориентированных вмешательств при АД (пример панели) | Recommended histological and immunohistochemical marker panel for assessing barrier-oriented interventions in atopic dermatitis (an example panel)

Блок Domain	Гистология Histological features	ИГХ-маркеры (минимум) Minimum IHC marker panel	Интерпретация Interpretation
Барьер рогового слоя Stratum corneum barrier	Толщина, гипер-/паракератоз, спонгиоз, шелушение/трещины; сухость Thickness, hyperkeratosis, parakeratosis, spongiosis, scaling/cracking; dryness	FLG ± лорикрин FLG ± loricrin	Восстановление дифференцировки; нормализация оси FLG–NMF; улучшение барьерной функции и гидратации Restoration of epidermal differentiation; normalization of FLG–NMF axis; improvement of barrier function and hydration
Зернистый слой Granular layer barrier	Целостность, непрерывность/«мозаичность», отсутствие выраженного спонгиоза Integrity, continuity/ mosaic pattern, absence of pronounced spongiosis	CLDN1 ± белок плотных контактов zonula occludens 1, окклюдин CLDN1 ± ZO-1 (TJP1), occludin	Нормализация «внутреннего» эпидермального барьера, снижение парацеллюлярной проницаемости Normalization of the internal epidermal barrier and reduction of paracellular permeability
Воспаление Inflammation	Инфильтрат, сосудистая реакция Inflammatory infiltrate, vascular response	p-STAT6 или NF-κB p65 ± IL-4/IL-13 p-STAT6 or NF-κB p65 ± IL-4/IL-13	Активность Th2-сигналинга/ воспалительных каскадов Activity of Th2 signaling and inflammatory cascades
Окислительное повреждение и цитопротективный ответ Oxidative damage and cytoprotective response	Некробиоз кератиноцитов, вакуолизация, дегенерация коллагеновых волокон Keratinocyte necrobiosis, vacuolization, collagen fiber degeneration	4-HNE или 8-OHdG + Nrf2/HO-1 4-HNE or 8-OHdG + Nrf2/HO-1	Баланс между повреждением тканей и цитопротекторной защитой Balance between tissue damage and cytoprotective defense

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Bieber T.* Atopic dermatitis: an expanding therapeutic pipeline for a complex disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2022;21(1):21–40. DOI: 10.1038/s41573-021-00266-6.
2. *Boguniewicz M.* Atopic dermatitis: best of guidelines and yardstick. *Allergy Asthma Proc.* 2025;46(1):19–25. DOI: 10.2500/aap.2025.46.240087.
3. *Kamata M, Tada Y.* Optimal use of Jak inhibitors and biologics for atopic dermatitis on the basis of current evidence. *JID Innov.* 2023;3(3):100195. DOI: 10.1016/j.xjidi.2023.100195.
4. *Drucker AM, Lam M, Prieto-Merino D, Malek R, Ellis AG, Yiu ZZN et al.* Systemic immunomodulatory treatments for atopic dermatitis: living systematic review and network meta-analysis update. *JAMA Dermatol.* 2024;160(9):936–44. DOI: 10.1001/jamadermatol.2024.2192.
5. *Gutermuth J, Pink AE, Worm M, Soldbro L, Bjerregård Øland C, Weidinger S.* Tralokinumab plus topical corticosteroids in adults with severe atopic dermatitis and inadequate response to or intolerance of ciclosporin A: a placebo-controlled, randomized, phase III clinical trial (ECZTRA 7). *Br J Dermatol.* 2022;186(3):440–52. DOI: 10.1111/bjd.20832.
6. *Blauvelt A, Teixeira HD, Simpson EL, Costanzo A, De Bruin-Weller M, Barbarot S et al.* Efficacy and safety of upadacitinib vs dupilumab in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis: a randomized clinical trial. *JAMA Dermatol.* 2021;157(9):1047–55. DOI: 10.1001/jamadermatol.2021.3023.
7. *Langan SM, Irvine AD, Weidinger S.* Atopic dermatitis. *Lancet.* 2020;396(10247):345–60. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31286-1.
8. *Yoshida T, Beck LA, De Benedetto A.* Skin barrier defects in atopic dermatitis: from old idea to new opportunity. *Allergol Int.* 2022;71(1):3–13. DOI: 10.1016/j.alit.2021.11.006.
9. *Wu S, Pang Y, He Y, Zhang X, Peng L, Guo J et al.* A comprehensive review of natural products against atopic dermatitis: flavonoids, alkaloids, terpenes, glycosides and other compounds. *Biomed Pharmacother.* 2021;140:111741. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111741.
10. *Matsumoto K, Morita H, Nakae S.* New insights into human atopic dermatitis provided by mouse models. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;148(3):722–4. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.07.016.
11. *Sakamoto K, Nagao K.* Mouse models for atopic dermatitis. *Curr Protoc.* 2023;3(3):e709. DOI: 10.1002/cpz1.709.
12. *Farhan M.* The promising role of polyphenols in skin disorders. *Molecules.* 2024;29(4):865. DOI: 10.3390/molecules29040865.
13. *Li D, Han Y, Zhou J, Chen J, Tey HL, Tan TTY.* Flavonoids in atopic dermatitis: mechanisms, delivery innovations, and translational strategies. *Front Pharmacol.* 2025;16:1631977. DOI: 10.3389/fphar.2025.1631977.
14. *Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho YY, Lee HS, Lee JY.* Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):2867. DOI:10.3390/ijms21082867.
15. *Stefanovic N, Irvine AD.* Filaggrin and beyond: new insights into the skin barrier in atopic dermatitis and allergic diseases, from genetics to therapeutic perspectives. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2024;132(2):187–95. DOI: 10.1016/j.anai.2023.09.009.
16. *Upadhyay PR, Seminario-Vidal L, Abe B, Ghobadi C, Sims JT.* Cytokines and epidermal lipid abnormalities in atopic dermatitis: a systematic review. *Cells.* 2023;12(24):2793. DOI: 10.3390/cells12242793.
17. *Sakai T, Hatano Y.* Stratum corneum pH and ceramides: key regulators and biomarkers of skin barrier function in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci.* 2025;118(2):51–7. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2025.04.001.
18. *Xia Y, Cao H, Zheng J, Chen L.* Claudin-1 mediated tight junction dysfunction as a contributor to atopic march. *Front Immunol.* 2022;13:927465. DOI: 10.3389/fimmu.2022.927465.
19. *Katsarou S, Makris M, Vakirlis E, Gregoriou S.* The role of tight junctions in atopic dermatitis: a systematic review. *J Clin Med.* 2023;12(4):1538. DOI: 10.3390/jcm12041538.
20. *Wollenberg A, Barbarot S, Bieber T, Christen-Zaech S, Deleuran M, Fink-Wagner A et al.* Consensus-based European guidelines for the treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(5):657–82. DOI: 10.1111/jdv.14891.
21. *Tanei R, Hasegawa Y.* Immunological pathomechanisms of spongiotic dermatitis in skin lesions of atopic dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(12):6682. DOI: 10.3390/ijms23126682.
22. *Guttmann-Yassky E, Kabashima K, Worm M, Luna PC, Hong HC, Chovatiya R et al.* Efficacy and safety of rocatinlimab for the treatment of moderate-to-severe atopic dermatitis in ROCKET-IGNITE and ROCKET-HORIZON: two global, double-blind, placebo-controlled, randomised phase 3 clinical trials. *Lancet.* 2026;407(10523):53–66. DOI: 10.1016/S0140-6736(25)01865-3.
23. *Trier AM, Kim BS.* Insights into atopic dermatitis pathogenesis lead to newly approved systemic therapies. *Br J Dermatol.* 2023;188(6):698–708. DOI: 10.1093/bjd/ljac016.
24. *Luo J, Zhu Z, Zhai Y, Zeng J, Li L, Wang D et al.* The role of TSLP in atopic dermatitis: from pathogenetic molecule to therapeutic target. *Mediators Inflamm.* 2023;2023:7697699. DOI: 10.1155/2023/7697699.
25. *De Simoni E, Candelora M, Belleggia S, Rizzetto G, Molinelli E, Capodaglio I et al.* Role of antioxidants supplementation in the treatment of atopic dermatitis: a critical narrative review. *Front Nutr.* 2024;11:1393673. DOI: 10.3389/fnut.2024.1393673.
26. *Trier AM, Mack MR, Fredman A, Tamari M, Ver Heul AM, Zhao Y et al.* IL-33 signaling in sensory neurons promotes dry skin itch. *J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(4):1473–80.e6. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.09.014.
27. *Legat FJ.* Itch in atopic dermatitis – what is new? *Front Med (Lausanne).* 2021;8:644760. DOI: 10.3389/fmed.2021.644760.
28. *Zhang Z, Chang C, Xiao L, Su H, Lyu Y, Zhao J et al.* The neuro-immune axis in atopic dermatitis: from pathogenic mechanisms to targeted neuroimmunotherapy. *J Inflamm Res.* 2025;18:18079–113. DOI: 10.2147/JIR.S578036.
29. *Lacwik J, Kraik K, Laska J, Tota M, Sędek Ł, Gomulka K.* IL-31/33 axis in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2025;26(20):10162. DOI: 10.3390/ijms262010162.
30. *Elizalde-Jiménez IG, Ruiz-Hernández FG, Carmona-Cruz SA, Pastrana-Arellano E, Aquino-Andrade A, Romo-González C et al.*

- Global antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 2024;160(11):1171–81. DOI: 10.1001/jamadermatol.2024.3360.
31. Kim HB, Alexander H, Um JY, Chung BY, Park CW, Flohr C *et al.* Skin microbiome dynamics in atopic dermatitis: understanding host-microbiome interactions. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2025;17(2):165–80. DOI: 10.4168/aaair.2025.17.2.165.
 32. Wang Z, Hülpiusch C, Traidl-Hoffmann C, Reiger M, Schlöter M. Understanding the role of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: strain diversity, microevolution, and prophage influences. *Front Med (Lausanne).* 2024;11:1480257. DOI: 10.3389/fmed.2024.1480257.
 33. Okamoto H, Li S, Nakamura Y. The role of skin dysbiosis and quorum sensing in atopic dermatitis. *JID Innov.* 2025;5(4):100377. DOI: 10.1016/j.xjidi.2025.100377.
 34. Hou B, Shao H, Yuan D, Tham EH. Skin and gut microbiome in atopic dermatitis: mechanisms and therapeutic opportunities. *Pediatr Allergy Immunol.* 2025;36(12):e70265. DOI: 10.1111/pai.70265.
 35. Ogawa T, Ishitsuka Y. The role of the KEAP1-NRF2 system in atopic dermatitis and psoriasis. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(7):1397. DOI: 10.3390/antiox11071397.
 36. Salman S, Paulet V, Hardonnière K, Kerdine-Römer S. The role of NRF2 transcription factor in inflammatory skin diseases. *Biofactors.* 2025;51(2):e70013. DOI: 10.1002/biof.70013.
 37. Luo Y, Hu J, Zhou Z, Zhang Y, Wu Y, Sun J. Oxidative stress products and managements in atopic dermatitis. *Front Med (Lausanne).* 2025;12:1538194. DOI: 10.3389/fmed.2025.1538194.
 38. Han SY, Im DS. Evodiamine alleviates 2,4-dinitro-1-chloro-benzene-induced atopic dermatitis-like symptoms in BALB/c mice. *Life (Basel).* 2024;14(4):494. DOI: 10.3390/life14040494.
 39. Ye S, Zhu L, Ruan T, Jia J, Mo X, Yan F *et al.* Comparative study of mouse models of atopic dermatitis. *Heliyon.* 2025;11(2):e41989. DOI: 10.1016/j.heliyon.2025.e41989.
 40. Zheng R, Ren Y, Liu X, He C, Liu H, Wang Y *et al.* Exogenous drug-induced mouse models of atopic dermatitis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2024;77:104–16. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2024.01.003.
 41. No H, Nam SH, Seo HW, Seo J, Park SH, Kim SB *et al.* Purple corn extract alleviates 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like phenotypes in BALB/c mice. *Anim Cells Syst (Seoul).* 2021;25(5):272–82. DOI: 10.1080/19768354.2021.1974938.
 42. Dorjsembe B, Nho CW, Choi Y, Kim JC. Extract from black soybean cultivar A63 extract ameliorates atopic dermatitis-like skin inflammation in an oxazolone-induced murine model. *Molecules.* 2022;27(9):2751. DOI: 10.3390/molecules27092751.
 43. Lv WJ, Huang JY, Li SP, Gong XP, Sun JB, Mao W *et al.* *Portulaca oleracea* L. extracts alleviate 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in mice. *Front Nutr.* 2022;9:986943. DOI: 10.3389/fnut.2022.986943.
 44. Guo X, He L, Sun J, Ye H, Yin C, Zhang W *et al.* Exploring the potential of anthocyanins for repairing photoaged skin: a comprehensive review. *Foods.* 2024;13(21):3506. DOI: 10.3390/foods13213506.
 45. Kim YE, Choi SW, Kim MK, Nguyen TL, Kim J. Therapeutic hydrogel patch to treat atopic dermatitis by regulating oxidative stress. *Nano Lett.* 2022;22(5):2038–47. DOI: 10.1021/acs.nanolett.1c04899.
 46. Tang KW, Hsu CY, Aljuffali IA, Alalaiwe A, Lai WN, Gu PY *et al.* Skin delivery of synthetic benzoyl pterostilbenes suppresses atopic dermatitis-like inflammation through the inhibition of keratinocyte and macrophage activation. *Biomed Pharmacother.* 2024;170:116073. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.116073.
 47. Kumkum R, Aston-Mourney K, McNeill BA, Hernández D, Rivera LR. Bioavailability of anthocyanins: whole foods versus extracts. *Nutrients.* 2024;16(10):1403. DOI: 10.3390/nu16101403.
 48. Dzah CS, Sun Y, Fu Q. Prooxidant behaviour of dietary polyphenols: mechanism and major influencing factors. *Adv Red Res.* 2024;11:100099. DOI: 10.1016/j.arres.2024.100099.
 49. Kakkar V, Saini K, Singh KK. Challenges of current treatment and future prospects of nanoformulations for atopic dermatitis. *Pharmacol Rep.* 2023;75(5):1066–95. DOI: 10.1007/s43440-023-00510-3.
 50. Narad P, Gokhale K, Wairka S. Flavonoids-based delivery systems to treat atopic dermatitis. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2024;98:105909. DOI: 10.1016/j.jddst.2024.105909.
 51. Tsvetov N, Pasichnik E, Korovkina A, Gosteva A. Extraction of bioactive components from *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. with choline chloride and organic acids natural deep eutectic solvents. *Molecules.* 2022;27(13):4216. DOI: 10.3390/molecules27134216.
 52. Иринуа О.И., Елисеева С.А. Изучение биохимического состава и лечебных свойств растения кипрей узколистный (иван-чай). *Ползуновский вестник.* 2021;2:44–54. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.02.006.
 53. Irinina OI, Eliseeva SA. The study of biochemical composition *Epilobium angustifolium* (fireweed). *Polzunovskiy Vestnik.* 2021;2:44–54 (In Russ.). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.02.006.
 54. Nowak A, Zagórska-Dziok M, Perużyńska M, Cybulska K, Kucharska E, Ossowicz-Rupniewska P *et al.* Assessment of the anti-inflammatory, antibacterial and anti-aging properties and possible use on the skin of hydrogels containing *Epilobium angustifolium* L. extracts. *Front Pharmacol.* 2022;13:896706. DOI: 10.3389/fphar.2022.896706.
 55. Hryč B, Kljakić AC, Cetiz MV, Ak G, Zengin G, Senkardes I *et al.* Network pharmacology of *Epilobium angustifolium* metabolites in relation to *in vitro* analyses of its extracts. *Fitoterapia.* 2025;183:106552. DOI: 10.1016/j.fitote.2025.106552.
 56. Zawawi NA, Ahmad H, Madatheri R, Fadilah NIM, Maarof M, Fauzi MB. Flavonoids as natural anti-inflammatory agents in the atopic dermatitis treatment. *Pharmaceutics.* 2025;17(2):261. DOI: 10.3390/pharmaceutics17020261.
 57. Song HK, Park SH, Kim HJ, Jang S, Choo BK, Kim HK *et al.* Inhibitory effect of *Sanguisorba hakusanensis* Makino ethanol extract on atopic dermatitis-like responses in NC/Nga mice and human keratinocytes. *Sci Rep.* 2023;13(1):14594. DOI: 10.1038/s41598-023-41676-3.
 58. Dreger M, Adamczak A, Foksowicz-Flaczyk J. Antibacterial and antimycotic activity of *Epilobium angustifolium* L. extracts: a re-

- view. Pharmaceuticals (Basel). 2023;16(10):1419. DOI: 10.3390/ph16101419.
58. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2020;18(7):e3000410. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000410.
59. Бояринцев Д.И., Кузьминов И.В., Брытова К.В., Русакова О.А. Стандартизация сырья, полученного из надземных органов кипрея узколистного (*Chamaenerion angustifolium* L.). Химия растительного сырья. 2024;3:177–187. DOI: 10.14258/jcprm.20240312495.
- Boyarintsev DI, Kuzminov IV, Bryutova KV, Rusakova OA. Standardization of raw materials obtained from aerial organs of natural fire-broad (*Chamaenerion angustifolium* L.). Khimiya Rastitelnogo Syrja = Chemistry of Plant Raw Material. 2024;3:177–187 (In Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240312495.

Информация об авторах

Даниил Иванович Петров – ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии Тюменского государственного медицинского университета, врач-дерматовенеролог областного кожно-венерологического диспансера Тюмени.

Лариса Владимировна Вихарева – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой топографической анатомии Тюменского государственного медицинского университета.

Сергей Львович Матусевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии Тюменского государственного медицинского университета.

Author information

Daniil I. Petrov – Assistant, Department of Dermatology and Venereology and Cosmetology, Tyumen State Medical University; Dermatologist and Venereologist, Tyumen Regional Dermatology and Venereology Outpatient Clinic.
<https://orcid.org/0000-0003-2705-1927>

Larisa V. Vikhareva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Topographic Anatomy, Tyumen State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-6864-4417>

Sergey L. Matusevich – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Dermatology and Venereology and Cosmetology, Tyumen State Medical University.
<https://orcid.org/0009-0005-1517-5764>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Особенности распределения ключевого маркера митохондриального биогенеза PGC-1 α в разных зонах головного мозга пациентов с болезнью Альцгеймера

*В.С. Сухоруков¹, Т.И. Баранич^{1,2}, О.В. Вельц¹, Д.Н. Воронков¹, Д.С. Лазарев¹,
Е.В. Щербак³, А.П. Ракша³, А.Н. Яцковский², В.В. Глинка¹*

¹ ФГБНУ Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

³ ГБУЗ Городская клиническая больница № 1 имени Н.И. Пирогова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Резюме. Введение. Болезнь Альцгеймера представляет собой наиболее распространенную нейродегенеративную патологию, однако ее патогенез остается неясным. Было доказано, что дисфункция одного из основных регуляторов митохондриального биогенеза – белка PGC-1 α ассоциирована с ранней утратой синапсов в наиболее поврежденных при болезни Альцгеймера областях мозга. Тем не менее в настоящее время данные о распределении белка PGC-1 α в нейронах при болезни Альцгеймера носят зачастую обобщенный характер, а детальная картина этого маркера в разных зонах коры и подкорковых структурах пациентов отсутствует. В связи с этим целью данного исследования является оценка распределения белка PGC-1 α в нейронах критически важных для диагностики болезни Альцгеймера зон: передней поясной извилины, средней лобной извилины, нижней теменной доли, головки хвостатого ядра и гиппокампа.

Материалы и методы. Иммуногистохимическое исследование маркера PGC-1 α в указанных зонах было выполнено с использованием аутопсийного материала пациентов с болезнью Альцгеймера, пациентов старческого и молодого возраста.

Результаты. При болезни Альцгеймера наблюдается выраженный рост реакции маркера белка PGC-1 α во всех исследуемых областях коры. Иной характер реакции обнаружен в нейронах гиппокампа: нейроны зоны СА1 демонстрируют тенденцию к снижению уровня этого белка, а в нейронах зоны СА2 наблюдается его выраженное снижение.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что выраженное снижение реакции PGC-1 α , отражающее падение уровня биогенеза митохондрий в гиппокампе, очевидно может являться значимым звеном повреждения нейронов данной области мозга при болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: митохондрии, нейродегенерация, болезнь Альцгеймера, гиппокамп, PGC-1 α

Для корреспонденции: Татьяна Ивановна Баранич. E-mail: baranich_tatyana@mail.ru

Для цитирования: Сухоруков В.С., Баранич Т.И., Вельц О.В., Воронков Д.Н., Лазарев Д.С., Щербак Е.В., Ракша А.П., Яцковский А.Н., Глинка В.В. Особенности распределения ключевого маркера митохондриального биогенеза PGC-1 α в разных зонах головного мозга пациентов с болезнью Альцгеймера. Клин. эксп. морфология. 2026;15(3):25–33. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.25-33.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Минобрнауки России на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технологического развития (соглашение № 075-15-2024-638).

Статья поступила 02.03.2026. Получена после рецензирования 10.03.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Regional distribution of the mitochondrial biogenesis regulator PGC-1 α in the brain in Alzheimer's disease

*V.S. Sukhorukov¹, T.I. Baranich^{1,2}, O.V. Velts¹, D.N. Voronkov¹, D.S. Lazarev¹,
E.V. Shcherbak³, A.P. Raksha³, A.N. Yatskovskiy², V.V. Glinkina¹*

¹ Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

³ Pirogov City Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Alzheimer's disease is the most common neurodegenerative disorder; however, its pathogenesis remains incompletely understood. PGC-1 α dysfunction, a key regulator of mitochondrial biogenesis, has been associated with early synapse loss in the brain regions most severely affected by the

disease. Nevertheless, current data on neuronal PGC-1 α distribution in Alzheimer's disease remain largely generalized, and its detailed characterization across different cortical and subcortical areas is still scarce. Therefore, we aimed to evaluate PGC-1 α distribution in neurons of brain regions critically involved in Alzheimer's disease, including the anterior cingulate gyrus, middle frontal gyrus, inferior parietal lobule, head of the caudate nucleus, and hippocampus.

Materials and methods. Autopsy brain specimens from elderly and young patients with Alzheimer's disease were subjected to immunohistochemical study of PGC-1 α distribution in the abovementioned areas.

Results. A marked increase in PGC-1 α expression was observed in all examined cortical regions. In contrast, a different pattern of response was found in hippocampal neurons: neurons in the CA1 region showed a tendency toward decreased PGC-1 α levels, while neurons in the CA2 region showed a marked decrease in protein expression.

Conclusion. Our data indicate that a significant reduction in PGC-1 α levels, reflecting impaired mitochondrial biogenesis in the hippocampus may represent a significant factor contributing to neuronal damage in this brain region in Alzheimer's disease.

Keywords: mitochondria, neurodegeneration, Alzheimer's disease, hippocampus, PGC-1 α

Corresponding author: Tatiana I. Baranich. E-mail: baranich_tatyana@mail.ru

For citation: Sukhorukov V.S., Baranich T.I., Velts O.V., Voronkov D.N., Lazarev D.S., Shcherbak E.V., Raksha A.P., Yatskovskiy A.N., Glinkina V.V. Regional distribution of the mitochondrial biogenesis regulator PGC-1 α in the brain in Alzheimer's disease. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)25–33 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.25-33.

Funding. The study was supported by a grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for large-scale scientific projects in priority areas of scientific and technological development (agreement No. 075-15-2024-638).

Received 02.03.2026. **Received in revised form** 10.03.2026. **Accepted** 14.05.2026.

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой наиболее распространенную нейродегенеративную патологию, проявляющуюся деменцией и выраженным когнитивным дефицитом. Патоморфологическими признаками БА являются накопление внутринейрональных нейрофибриллярных клубков и образование бляшек из агрегатов β -амилоида ($A\beta$), а также прогрессирующая потеря нейронов и синаптическая дисфункция. Несмотря на многочисленные работы, патогенез БА остается неясным, а существующие терапевтические подходы носят лишь симптоматический характер, не влияя на прогрессирование заболевания. Отсутствие эффективных методов лечения подчеркивает острую необходимость дальнейших исследований патогенеза БА и поиска новых терапевтических мишеней.

Согласно ряду публикаций, ключевую роль в запуске и прогрессировании нейродегенерации при БА играют митохондриальная дисфункция и окислительный стресс [1, 2]. Показано, что накопление $A\beta$ в ткани может приводить к дисрегуляции митохондриальной динамики, усилению окислительного стресса, а также снижению митохондриального биогенеза [3, 4]. Известно, что одним из важнейших регуляторов митохондриального биогенеза, энергетического метаболизма, антиоксидантной защиты, а также динамики митохондрий предстает транскрипционный коактиватор PGC-1 α (коактиватор 1 α рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом). PGC-1 α координирует экспрессию генов, ответственных за пролиферацию митохондрий и их динамику. Так, доказана его роль в активации промотора гена *Mfn2*, кодирующего белок

слияния наружных митохондриальных мембран [5], что влияет на морфологию и количество этих органелл в нейронах.

При БА иммуногистохимическая реакция на белок PGC-1 α снижается, что коррелирует с усилением когнитивных нарушений и патологическим накоплением $A\beta$ [6]. Это позволяет предположить, что дефицит белка PGC-1 α не просто следствие, но и значимое звено патогенеза, способствующее нарушению митохондриальной динамики, энергетическому коллапсу клеток и повышению уязвимости нейронов к окислительному стрессу и апоптозу.

Доказано, что дисфункция сигнального пути PGC-1 α ассоциирована с ранней утратой синапсов в наиболее поврежденных при БА областях мозга, включая гиппокамп и кору [7–9]. Также было показано, что снижение реакции на PGC-1 α коррелирует со сниженной митохондриальной функцией и нарушением процессинга белка-предшественника $A\beta$ (amyloid precursor protein, APP) в трансгенных моделях БА [8, 10, 11], а олигомеры $A\beta$ подавляют ядерную транслокацию PGC-1 α , усугубляя дисбаланс митохондриальной динамики [12].

Сказанное выше позволяет считать белок PGC-1 α одним из ключевых координаторов процессов клеточного метаболизма и устойчивости нейронов к неблагоприятным условиям, а дисфункция белка PGC-1 α может быть напрямую связана с развитием БА [12, 13].

Известно, что нейродегенеративный процесс при БА неравномерен и в первую очередь затрагивает нейроны гиппокампа и энторинальной коры, в последующем распространяясь на другие зоны головного мозга (ГМ) [3, 14]. Тем не менее в настоящее время

данные о распределении белка PGC-1 α в нейронах при БА носят зачастую обобщенный характер, и мы практически не располагаем детальной картиной распределения этого маркера в разных зонах коры и подкорковых структурах пациентов с БА. Эти региональные особенности могут быть ключом к пониманию избирательной уязвимости нейронов определенных областей ГМ при БА. Детальное исследование количества PGC-1 α в нейронах различных областей ГМ при БА необходимо для разработки корректной терапевтической стратегии, которая должна учитывать не просто общий уровень этого белка, а его количество в конкретных, критически важных для когнитивных функций областях. В связи с этим целью данного исследования является оценка распределения белка PGC-1 α в нейронах передней поясной извилины, средней лобной извилины, нижней теменной доли, головки хвостатого ядра и гиппокампа.

Материалы и методы

Работа была выполнена на базе лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук. Все этапы исследования соответствуют законодательству Российской Федерации и нормативным документам Российского центра неврологии и нейронаук, а также одобрены локальным этическим комитетом центра (протокол № 7-2/24 от 02.09.2024). Использованный аутопсийный материал пациентов с БА был получен от 10 умерших с подтвержденной болезнью Альцгеймера (стадия по Брааку 3–4), в возрасте старше 85 лет (85–89 лет), причиной смерти которых явилась тромбоэмболия легочной артерии при наличии постинфарктного или атеросклеротического кардиосклероза на фоне гипертонической болезни. Для сравнительного анализа нами был использован аутопсийный материал двух групп: первая группа – нормальное старение, материал получен от лиц старше 85 лет (85–99 лет) без болезни Альцгеймера, умерших по аналогичным причинам (n=20); вторая группа – молодые пациенты, 35–45 лет, с диагнозом внезапной сердечной смерти (n=20). Критерии исключения (для всех трех групп): острый и перенесенный инсульт, хронические неврологические и нервно-мышечные болезни, заболевания сердечно-сосудистой и других систем с декомпенсацией (выраженной недостаточностью), острое течение инфекционных, инфекционно-аллергических и аутоиммунных заболеваний, злокачественные опухоли любой локализации III–IV стадии, алкоголизм и наркомания. Кроме того, в исследование не включались умершие с асимптомным гемодинамически значимым атеросклерозом церебральных артерий (сужение просвета артерий на 70% и более), а также артериальной гипертонией 2–3-й степени в анамнезе. В каждом случае для микроскопического исследования вырезали блоки длиной 2–2,5 см, шириной 1–1,5 см и толщиной 0,5–0,7 см из следующих областей: передняя треть средней лобной извилины, передняя поясная извилина, средняя

часть головки хвостатого ядра, гиппокамп из средней части височной доли, верхняя часть нижней теменной доли. Вырезанные блоки фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов, после чего материал был обработан по стандартной методике (обезвоживание спиртом, обработка ксилолом) с последующей заливкой в парафин.

Для выполнения иммуногистохимического исследования с помощью микротомы изготовлены срезы толщиной 3 мкм, которые были нанесены на предметные стекла с положительным зарядом поверхности SuperFrost Plus (Thermo Scientific, США), а затем высушены в термостате в течение 24 часов при температуре +48°C. Для иммуногистохимического исследования использованы антитела к PGC-1 α (поликлональные, Abcam, США, ab191838, разведение 1:200). Проводилась термическая демаскировка антигена в течение 15 минут. Инкубация с первичными антителами проводилась 12 часов при температуре +4°C. Для выявления связывания антител использовали набор реагентов для визуализации на основе полимера NovoLink и пероксидазы (NovoLink Polymer Detection Systems, Германия). Были поставлены отрицательные контроли. На микрофотографиях препаратов, полученных с помощью микроскопа Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия) и цифровой камеры Leica DC-300 (Leica Microsystems, Германия) с использованием программы Leica Qwin 2.7 (Германия), в ядрах и перикарионах 150 нейронов в каждом случае оценивали интенсивность иммунопероксидазной реакции в следующих зонах: 3-м и 5-м слое лобной коры, 3-м и 5-м слое поясной коры, области головки хвостатого ядра, CA1, CA2, CA4 и гранулярном слое зубчатой извилины гиппокампа, 2-м, 3-м, 4-м и 5-м слоях теменной коры. Тела и ядра нейронов выделяли на изображении с помощью графического планшета Intuos Pro (Wacom, Япония) и оценивали среднюю яркость выделенной области (в условных единицах: 256 градаций яркости 8-битного изображения, где 0 – белый, 255 – черный) в исследуемых областях, вычитая значения фонового окрашивания.

Для статистической обработки и представления данных использовали программы Statistica 13.0 (Statsoft, США) и GraphPad Prism 8.0 (Dotmatics, США). Нормальность распределения оценивали по тесту Шапиро–Уилка. Для сравнения групп использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным тестом Фишера LSD. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В передней поясной извилине при старении наблюдается повышение реакции маркера PGC-1 α в цитоплазме и в ядре нейронов (обе фракции $<0,0001$). При БА это повышение усиливается в обеих фракциях ($<0,0001$) PGC-1 α (рис. 1).

В средней лобной извилине при старении наблюдается снижение реакции обеих фракций PGC-1 α

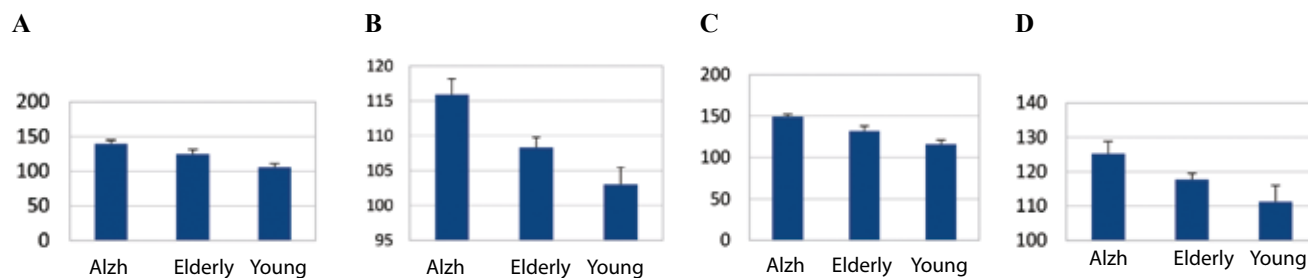


Рис. 1. Результаты морфометрического анализа иммуногистохимического распределения маркера PGC-1α в ядре и в цитоплазме нейронов 3-го слоя (соответственно, А и В) и 5-го слоя (соответственно, С и D) поясной извилины.

Young – группа молодых пациентов, Elderly – группа старых пациентов, Alzh – группа пациентов с болезнью Альцгеймера

Fig. 1. Morphometric analysis of the immunohistochemical distribution of PGC-1α in the nuclei and cytoplasm of neurons in layer III (A and B, respectively) and layer V (C and D, respectively) of the cingulate gyrus.

Young – young patients, Elderly – elderly patients, Alzh – Alzheimer's disease patients

в нейронах относительно группы молодого возраста (нуклеарная – $<0,0001$, цитоплазматическая – $0,0007$), тогда как при БА – повышение их уровня относительно группы старения (обе $<0,0001$) (рис. 2, 3).

В нейронах головки хвостатого ядра выраженные изменения отсутствуют как при старении, так и при БА.

Гиппокамп

В нейронах зоны СА1 наблюдается тенденция к снижению обеих фракций PGC-1α при старении и при БА.

В нейронах зоны СА2 при старении реакция обеих фракций PGC-1α не отличается от показателей в группе молодого возраста. При БА обнаружено снижение

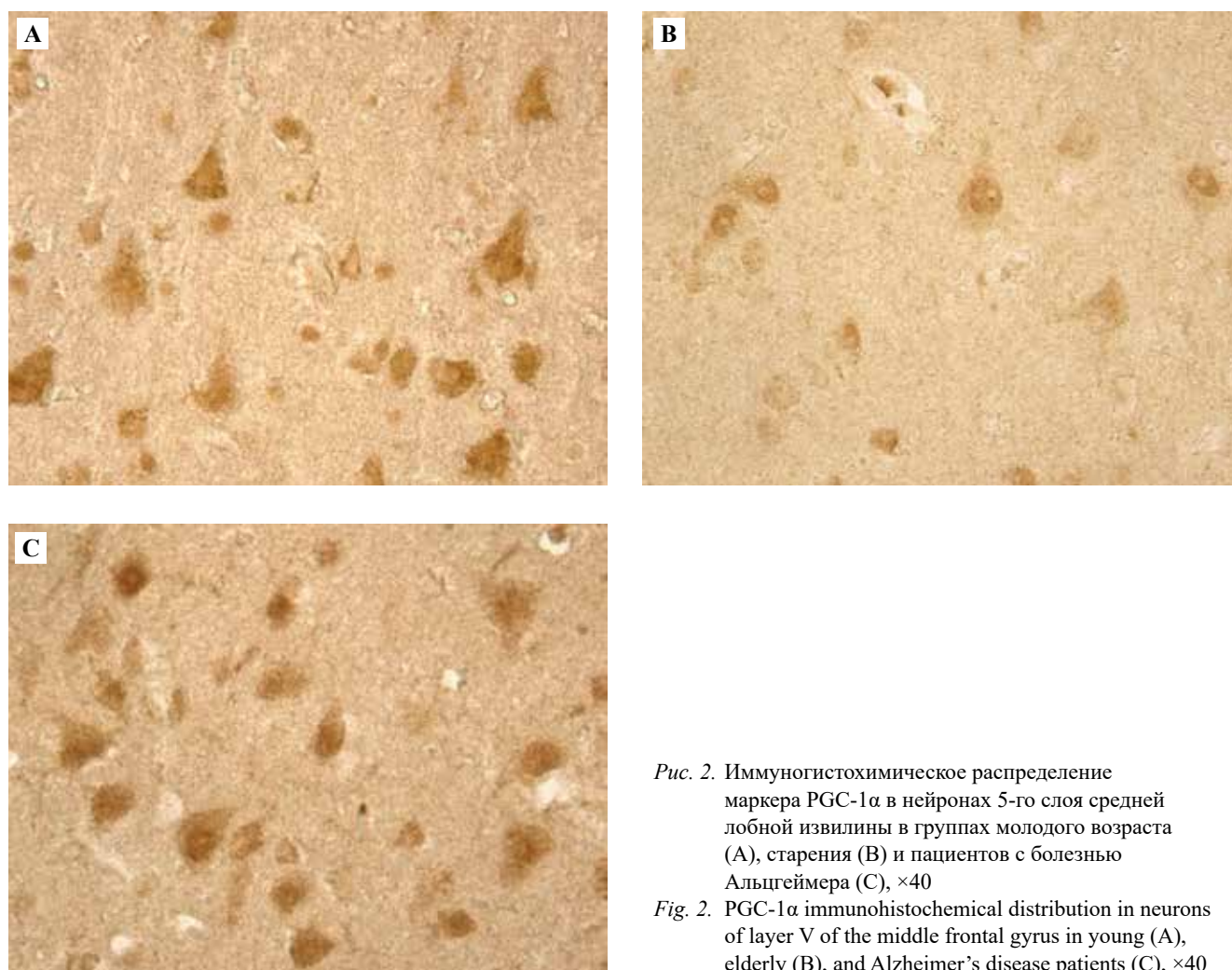


Рис. 2. Иммуногистохимическое распределение маркера PGC-1α в нейронах 5-го слоя средней лобной извилины в группах молодого возраста (А), старения (В) и пациентов с болезнью Альцгеймера (С), $\times 40$

Fig. 2. PGC-1α immunohistochemical distribution in neurons of layer V of the middle frontal gyrus in young (A), elderly (B), and Alzheimer's disease patients (C), $\times 40$

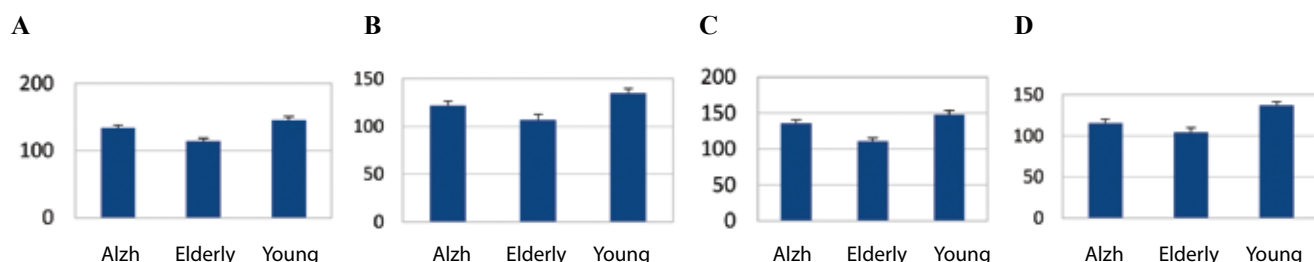


Рис. 3. Результаты морфометрического анализа иммуногистохимического распределения маркера PGC-1α в ядре и в цитоплазме нейронов 3-го слоя (соответственно, А и В) и 5-го слоя (соответственно, С и D) лобной извилины.

Young – группа молодых пациентов, Elderly – группа старых пациентов, Alzh – группа пациентов с болезнью Альцгеймера

Fig. 3. Morphometric analysis of the immunohistochemical distribution of PGC-1α in the nuclei and cytoplasm of neurons in layer III (A and B, respectively) and layer V (C and D, respectively) of the frontal gyrus.

Young – young patients, Elderly – elderly patients, Alzh – Alzheimer's disease patients

обеих фракций PGC-1α относительно показателей группы старения (обе $<0,0001$).

Относительно группы молодого возраста при старении в нейронах зоны СА4 наблюдается снижение реакции цитоплазматической фракции ($<0,0001$) PGC-1α при неизменной реакции нуклеарной фракции. При БА реакция цитоплазматической фракции PGC-1α не отличается от показателя в группе старения, а реакция нуклеарной фракции характеризуется выраженным снижением ($<0,0001$) относительно двух других исследованных групп.

В нейронах гранулярного слоя зубчатой извилины при старении (в сравнении с группой молодого возраста) снижается реакция обеих фракций ($<0,0001$)

PGC-1α, тогда как при БА наблюдается выраженное повышение их реакции (обе $<0,0001$) относительно группы старения (рис. 4).

В нейронах 2-го, 3-го, 4-го, 5-го слоев нижней теменной доли при старении не обнаружено изменения реакции нуклеарной фракции PGC-1α. Уровень реакции цитоплазматической фракции PGC-1α также не отличался от показателей группы молодого возраста во всех исследованных слоях, за исключением нейронов 2-го слоя, в которых реакция цитоплазматической фракции PGC-1α увеличивалась ($<0,0001$). По сравнению с группой старения при БА в нейронах 2-го и 4-го слоев наблюдается выраженное повышение реакции нуклеарной фракции ($<0,0001$) PGC-1α без изменения реак-

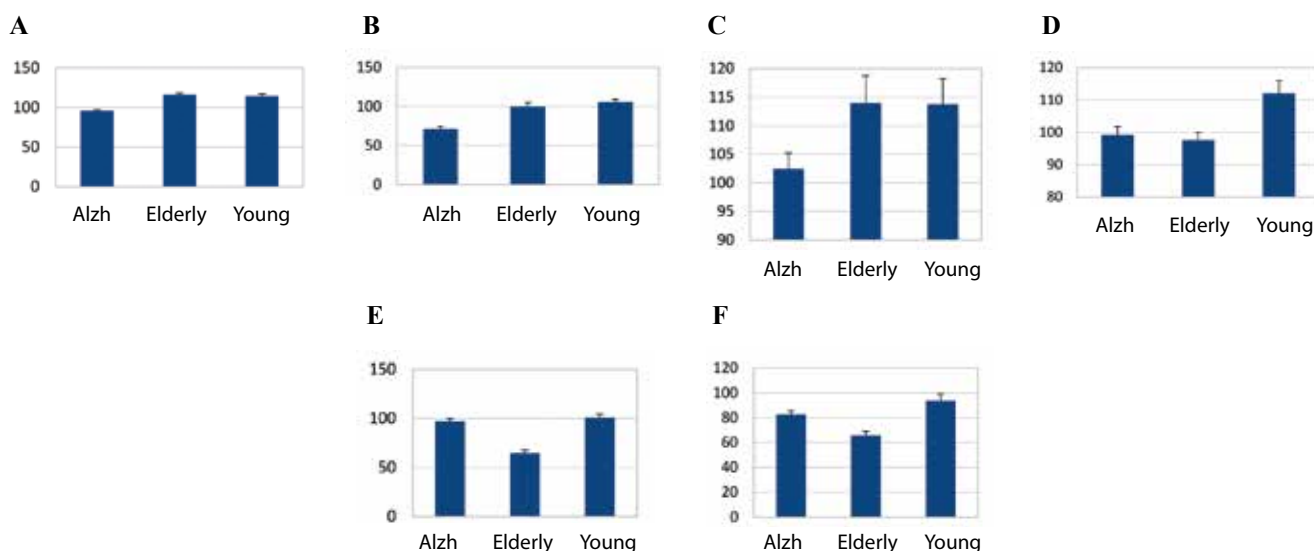


Рис. 4. Результаты морфометрического анализа иммуногистохимического распределения маркера PGC-1α в ядре и в цитоплазме нейронов зоны СА2 (соответственно, А и В), зоны СА4 (соответственно, С и D) и гранулярного слоя зубчатой извилины гиппокампа (соответственно, Е и F).

Young – группа молодых пациентов, Elderly – группа старых пациентов, Alzh – группа пациентов с болезнью Альцгеймера

Fig. 4. Morphometric analysis of the immunohistochemical distribution of PGC-1α in the nuclei and cytoplasm of neurons in CA2 region (A and B, respectively), CA4 region (C and D, respectively), and the granular layer of the dentate gyrus of the hippocampus (E and F, respectively).

Young – young patients, Elderly – elderly patients, Alzh – Alzheimer's disease patients

ции цитоплазматической фракции этого белка, тогда как в 3-м и 5-м слоях обнаружено увеличение реакции обеих фракций (<0,0001) (табл.).

Обсуждение

Физиологическое старение нейронов исследованных областей неокортекса (средняя лобная извилина, передняя поясная извилина, нижняя теменная доля) характеризовалось различными вариантами изменений реакции белка PGC-1α. Так, обнаружено снижение реакции двух фракций белка PGC-1α в нейронах средней лобной извилины, увеличение реакции двух фракций белка PGC-1α в нейронах передней поясной извилины, а также отсутствие изменений реакции белка PGC-1α в нейронах нижней теменной доли (за исключением нейронов ее 2-го слоя). Однако при БА наблюдается

выраженный рост одной (3-й и 5-й слой нижней теменной доли) или обеих фракций PGC-1α во всех исследуемых областях коры. По данным ряда публикаций, эти зоны коры при БА характеризуются выраженным дефицитом белка слияния митохондрий OPA1 (optic atrophy 1, белок атрофии зрения 1) и смещением баланса между процессами митохондриальной динамики в сторону преобладания деления митохондрий [3, 15], что, по-видимому, необходимо для утилизации дефектных митохондрий и их фрагментов. Таким образом, увеличение реакции ядерной и цитоплазматической фракций белка PGC-1α в нейронах этих участков коры может рассматриваться как возможный адаптационный механизм, при помощи которого в нейронах усиливается биогенез митохондрий. Интересно, что при БА в большинстве исследуемых зон упомянутых корковых

Таблица | Table

Изменение реакции белка PGC-1α в ядре и в цитоплазме нейронов исследованных зон при старении (относительно группы молодого возраста) и при БА (относительно группы старения) | Changes in nuclear and cytoplasmic PGC-1α expression in neurons of the studied brain regions during aging (relative to the young group) and in Alzheimer’s disease (relative to the aging group)

Зона Zone	Старение, ядро Aging, nucleus	Старение, цитоплазма Aging, cytoplasm	Альцгеймер, ядро Alzheimer’s disease, nucleus	Альцгеймер, цитоплазма Alzheimer’s disease, cytoplasm
Средняя лобная извилина, 3-й слой Middle frontal gyrus, layer III	↓	↓	↑	↑
Средняя лобная извилина, 5-й слой Middle frontal gyrus, layer V	↓	↓	↑	↑
Передняя поясная извилина, 3-й слой Anterior cingulate gyrus, layer III	↑	↑	↑	↑
Передняя поясная извилина, 5-й слой Anterior cingulate gyrus, layer V	↑	↑	↑	↑
Головка хвостатого ядра Head of the caudate nucleus	N	N	N	N
Гиппокамп, CA1 Hippocampus, CA1	↓ tend	↓ tend	↓ tend	↓ tend
Гиппокамп, CA2 Hippocampus, CA2	N	N	↓	↓
Гиппокамп, CA4 Hippocampus, CA4	N	↓	↓	N
Гиппокамп, зубчатая извилина Hippocampus, dentate gyrus	↓	↓	↑	↑
Нижняя теменная доля, 2-й слой Inferior parietal lobule, layer II	N	↑	↑	↑
Нижняя теменная доля, 3-й слой Inferior parietal lobule, layer III	N	N	N	↑
Нижняя теменная доля, 4-й слой Inferior parietal lobule, layer IV	N	N	↑	↑
Нижняя теменная доля, 5-й слой Inferior parietal lobule, layer V	N	N	N	↑

N – отсутствие изменений, tend – тенденция, ↑ – повышение, ↓ – понижение | N – no changes, tend – tendency, ↑ – increase, ↓ – decrease

областей наблюдается также увеличение реакции белка Mfn-2 (регулятор слияния наружных митохондриальных мембран) [3], кодируемого одним из целевых генов PGC-1 α [5], что может также подтверждать адаптационный характер повышения уровня белка PGC-1 α (табл.).

Другие исследования подтверждают, что увеличение реакции на PGC-1 α может носить компенсаторный характер, направленный на противодействие окислительному стрессу [16]. Кроме этого, повышение уровня PGC-1 α обеспечивает нейропротекцию за счет увеличения транскрипции факторов роста NGF (nerve growth factor, фактор роста нервов) и BDNF (brain-derived neurotrophic factor, нейротрофический фактор мозга), а также снижения нейровоспаления, опосредованного A β [17, 18]. Так, исследования на трансгенных моделях БА демонстрируют, что искусственное повышение или сверхэкспрессия PGC-1 α способны ослабить нейродегенерацию, уменьшить накопление A β и улучшить когнитивные функции за счет снижения уровня ферментов, участвующих в образовании амилоида [16]. Показано также, что доставка гена *Ppargc1a* (PGC-1 α) с помощью аденоассоциированного вируса в латеральную теменную ассоциативную кору модельных мышей APP/PS1 (с последующей активацией этого гена) приводила к снижению отложения A β и снижала апоптоз нейронов [18].

Совершенно иной характер реакции обнаружен в нейронах гиппокампа. Так, нейроны зоны CA1 демонстрируют тенденцию к снижению обеих фракций белка PGC-1 α при старении, что усугубляется при БА. Это может отражать изначальную большую чувствительность нейронов данной зоны к хронической ишемии (при старении) и нейродегенеративным процессам, делая нейроны CA1 наиболее уязвимыми при БА. Нейроны зоны CA2 не демонстрируют выраженных изменений реакции белка PGC-1 α при старении, однако при БА наблюдается выраженное снижение обеих фракций маркера. Таким образом, можно предположить, что компенсаторный потенциал нейронов зоны CA2 (изначально более устойчивых к повреждению) снижается при БА на фоне уменьшения в них реакции белка PGC-1 α . Снижение уровня PGC-1 α и возможное ассоциированное с ним снижение нейрональных адаптационных механизмов наблюдаются и в зоне CA4, которое начинается при старении (снижение реакции цитоплазматической фракции PGC-1 α), и, вероятно, не влияет на функциональный ответ (за счет стабильного количества ядерной фракции PGC-1 α). Тем не менее при БА в нейронах зоны CA4 наблюдается потеря ядерного пула PGC-1 α , что может приводить к развитию нарушений регуляции митохондриального биогенеза. Кроме этого, данные по изменению содержания фракций PGC-1 α подчеркивают важность их дифференцированного рассмотрения при исследовании: при старении выражено снижается цитоплазматическая фракция белка, а ядерная остается на базовом уровне, тогда как при БА наблюдается снижение ядерного пула

PGC-1 α без продолжающейся потери цитоплазматического.

Интересно, что нейроны гранулярного слоя зубчатой извилины гиппокампа, в которых при старении наблюдается снижение ядерной и цитоплазматической фракции PGC-1 α , при БА демонстрируют выраженное увеличение обеих фракций PGC-1 α . Учитывая то, что зубчатая извилина является одним из центров постнатального нейрогенеза, увеличение уровня PGC-1 α в нейронах этой зоны можно рассматривать как компенсаторную гиперактивацию митохондриального биогенеза для выживания нейрональных предшественников.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что выраженное снижение реакции PGC-1 α и ассоциированного с ним уровня биогенеза митохондрий в гиппокампе очевидно может являться значимым звеном повреждения нейронов данной области мозга при болезни Альцгеймера, тогда как региональное увеличение реакции PGC-1 α в ряде корковых областей, вероятно, можно расценивать как гетерогенное по своей эффективности проявление компенсаторных нейрональных реакций.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.С. Сухоруков, Т.И. Баранич, В.В. Глинка, А.Н. Яцковский.
Сбор и обработка материала – Т.И. Баранич, О.В. Вельц, Д.Н. Воронков, Е.В. Щербак, А.П. Ракша.
Написание текста – В.С. Сухоруков, Т.И. Баранич, В.В. Глинка.
Редактирование – Е.В. Щербак, Д.С. Лазарев.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.S. Sukhorukov, T.I. Baranich, V.V. Glinkina, A.N. Yatskovskiy.
Collected the data and performed the analysis – T.I. Baranich, O.V. Velts, D.N. Voronkov, E.V. Shcherbak, A.P. Raksha.
Wrote the paper – V.S. Sukhorukov, T.I. Baranich, V.V. Glinkina.
Edited the manuscript – E.V. Shcherbak, D.S. Lazarev.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Bai R, Guo J, Ye XY, Xie Y, Xie T. Oxidative stress: the core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease. Ageing Res Rev. 2022;77:101619. DOI: 10.1016/j.arr.2022.101619.
2. Shi HZ, Wang YJ, Wang YX, Xu LF, Pan W, Shi L et al. The potential benefits of PGC-1 α in treating Alzheimer's disease are dependent on the integrity of the LLKYL L3 motif: effect of regulating mitochondrial axonal transportation. Exp Gerontol. 2024;194:112514. DOI: 10.1016/j.exger.2024.112514.
3. Sukhorukov VS, Baranich TI, Velts OV, Voronkov DN, Shcherbak EV, Lazarev DS et al. Features of mitochondrial dynamics in different brain parts of patients with Alzheimer's disease. Int J Mol Sci. 2025;27(1):107. DOI: 10.3390/ijms27010107.
4. Сухоруков В.С., Баранич Т.И., Егорова А.В., Федорова Е.Н., Скворцова К.А., Харламов Д.А. и др. Митохондриальная

- динамика и значение ее нарушений в развитии детских болезней. Часть I. Физиологические и неврологические аспекты. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2024;69(1):25–33. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-1-25-33. Sukhorukov VS, Baranich TI, Egorova AV, Fedorova EN, Skvortsova KA, Kharlamov DA et al. Mitochondrial dynamics and the significance of its disturbances in the development of childhood diseases. Part I. Physiological and neurological aspects. Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2024;69(1):25–33 (In Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-1-25-33.
5. Soriano FX, Liesa M, Bach D, Chan DC, Palacín M, Zorzano A. Evidence for a mitochondrial regulatory pathway defined by peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , estrogen-related receptor- α , and mitofusin 2. *Diabetes*. 2006;55(6):1783–91. DOI: 10.2337/db05-0509.
 6. Mota BC, Sastre M. The role of PGC1 α in Alzheimer's disease and therapeutic interventions. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5769. DOI: 10.3390/ijms22115769.
 7. Cheng A, Wan R, Yang JL, Kamimura N, Son TG, Ouyang X et al. Involvement of PGC-1 α in the formation and maintenance of neuronal dendritic spines. *Nat Commun*. 2012;3:1250. DOI: 10.1038/ncomms2238.
 8. Dong YT, Cao K, Xiang J, Shan L, Guan ZZ. Silent mating-type information regulation 2 homolog 1 attenuates the neurotoxicity associated with Alzheimer disease via a mechanism which may involve regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1- α . *Am J Pathol*. 2020;190(7):1545–64. DOI: 10.1016/j.ajpath.2020.03.015.
 9. Singulani MP, Pereira CPM, Ferreira AFF, Garcia PC, Ferrari GD, Alberici LC et al. Impairment of PGC-1 α -mediated mitochondrial biogenesis precedes mitochondrial dysfunction and Alzheimer's pathology in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*. 2020;133:110882. DOI: 10.1016/j.exger.2020.110882.
 10. Qin W, Haroutunian V, Katsel P, Cardozo CP, Ho L, Buxbaum JD et al. PGC-1 α expression decreases in the Alzheimer disease brain as a function of dementia. *Arch Neurol*. 2009;66(3):352–61. DOI: 10.1001/archneurol.2008.588.
 11. Pedrós I, Petrov D, Allgaier M, Sureda F, Barroso E, Beas-Zarate C et al. Early alterations in energy metabolism in the hippocampus of APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(9):1556–66. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.05.025.
 12. Panes JD, Godoy PA, Silva-Grecchi T, Celis MT, Ramirez-Molina O, Gavilan J et al. Changes in PGC-1 α /SIRT1 signaling impact on mitochondrial homeostasis in amyloid- β peptide toxicity model. *Front Pharmacol*. 2020;11:709. DOI: 10.3389/fphar.2020.00709.
 13. Wenz T. Mitochondria and PGC-1 α in aging and age-associated diseases. *J Aging Res*. 2011;2011:810619. DOI: 10.4061/2011/810619.
 14. Duara R, Barker W. Heterogeneity in Alzheimer's disease diagnosis and progression rates: implications for therapeutic trials. *Neurotherapeutics*. 2022;19(1):8–25. DOI: 10.1007/s13311-022-01185-z.
 15. McGill Percy KC, Liu Z, Qi X. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: guiding the path to targeted therapies. *Neurotherapeutics*. 2025;22(3):e00525. DOI: 10.1016/j.neurot.2025.e00525.
 16. Katsouri L, Lim YM, Blondrath K, Eleftheriadou I, Lombardero L, Birch AM et al. PPAR γ -coactivator-1 α gene transfer reduces neuronal loss and amyloid- β generation by reducing β -secretase in an Alzheimer's disease model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(43):12292–7. DOI: 10.1073/pnas.1606171113.
 17. You W, Knoops K, Berendschot TTJM, Benedikter BJ, Webers CAB, Reutelingsperger CPM et al. PGC-1 α mediated mitochondrial biogenesis promotes recovery and survival of neuronal cells from cellular degeneration. *Cell Death Discov*. 2024;10(1):180. DOI: 10.1038/s41420-024-01953-0.
 18. Wang J, Liu WJ, Shi HZ, Zhai HR, Qian JJ, Zhang WN. A role for PGC-1 α in the control of abnormal mitochondrial dynamics in Alzheimer's disease. *Cells*. 2022;11(18):2849. DOI: 10.3390/cells11182849.

Информация об авторах

Владимир Сергеевич Сухоруков – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук.

Татьяна Ивановна Баранич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук, доцент кафедры анатомии и гистологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Ольга Владимировна Вельц – научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук.

Дмитрий Николаевич Воронков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук.

Дмитрий Сергеевич Лазарев – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук.

Екатерина Вадимовна Щербак – врач-патологоанатом ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова.

Александр Петрович Ракша – доктор медицинских наук, профессор, заведующий патологоанатомическим отделением ГКБ № 1 им. Н.И. Пирогова.

Александр Никодимович Яцковский – доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии и гистологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Валерия Владимировна Глинкина – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Российского центра неврологии и нейронаук.

Author information

Vladimir S. Sukhorukov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences.

<https://orcid.org/0000-0002-0552-6939>

Tatiana I. Baranich – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences; Associate Professor, Department of Anatomy and Histology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0002-8999-9986>

Olga V. Velts – Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences.

<https://orcid.org/0009-0003-0223-7335>

Dmitry N. Voronkov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences.

<https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Dmitry S. Lazarev – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences.

<https://orcid.org/0009-0004-8780-6425>

Ekaterina V. Shcherbak – Pathologist, Pirogov City Clinical Hospital No. 1.

<https://orcid.org/0009-0006-0346-4523>

Alexander P. Raksha – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Pathology Department, Pirogov City Clinical Hospital No. 1.

<https://orcid.org/0009-0005-7897-5179>

Alexander N. Yatskovskiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Anatomy and Histology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0003-4387-7307>

Valeria V. Glinkina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Russian Center of Neurology and Neurosciences.

<https://orcid.org/0000-0001-8708-6940>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Оценка воспалительной реакции и митофагии в моноцитах, ТНР-1, гладкомышечных клетках и фибробластах

С.С. Верхова^{1,2}, Н.Г. Никифоров^{1,2,3}, А.Д. Журавлев¹, Е.Е. Егоров³, М.А. Попов⁴,
Е.С. Чегодаев¹, Д.Б. Эрдынеева¹, Х.С. Вишнякова³, У.С. Хованцева², А.М. Маркин^{2,5},
Д.Г. Брешенков², Э.Р. Чарчян², А.Н. Орехов¹

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

³ ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

⁴ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского (МОНИКИ), Москва, Россия

⁵ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

Резюме. Введение. Воспаление сосудистой стенки является одним из ключевых механизмов атерогенеза. Сосудистая стенка представлена в основном эндотелиальными, гладкомышечными и соединительнотканными клетками. При атерогенезе активированный эндотелий обеспечивает рекрутирование моноцитов в интиму, где они дифференцируются в макрофаги и пенстые клетки, что поддерживает локальное воспаление и формирование атеросклеротической бляшки. При этом относительный вклад отдельных клеточных типов в формирование воспалительного ответа остается недостаточно изучен. В условиях атерогенеза клетки подвергаются липидной нагрузке, окислительному стрессу и гипоксии, что может сопровождаться повреждением митохондрий. Если поврежденные митохондрии не удаляются своевременно в ходе митофагии, их накопление может поддерживать воспаление. Целью данного исследования было сравнить способность различных клеточных моделей к ответу на стимуляцию липополисахаридом (LPS), а также оценить потенциал прижизненной визуализации митохондрий и лизосом в выбранных моделях, что необходимо для анализа митофагии.

Материалы и методы. В рамках исследования использованы CD14⁺ моноциты человека, моноцитарная линия ТНР-1, гладкомышечные клетки и фибробласты линии hTERT977. Клетки стимулировали LPS в концентрации 1 мкг/мл в течение 24 часов, после чего оценивали секрецию TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 в супернатанте методом ELISA.

Результаты. Наиболее выраженный ответ на LPS был в моноцитах и макрофагах, тогда как гладкомышечные клетки и фибробласты секретировали только IL-6, IL-8, CCL2. Также были получены изображения прижизненно окрашенных митохондрий и лизосом для дальнейшего изучения митофагии в них. При этом обработка фтороболовым эфиром сопровождалась устойчивым провоспалительным фоном, что усложняло интерпретацию LPS-индуцированного воспаления.

Заключение. Показано, что выбранные модели подходят для количественной оценки секреции цитокинов в ответ на стимуляцию LPS, анализа экспрессии генов провоспалительных цитокинов и изучения митофагии с использованием конфокальной микроскопии.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, гладкомышечные клетки, фибробласты, воспаление

Для корреспонденции: Светлана Сергеевна Верхова. E-mail: verxova.svetlana@gmail.com

Для цитирования: Верхова С.С., Никифоров Н.Г., Журавлев А.Д., Егоров Е.Е., Попов М.А., Чегодаев Е.С., Эрдынеева Д.Б., Вишнякова Х.С., Хованцева У.С., Маркин А.М., Брешенков Д.Г., Чарчян Э.Р., Орехов А.Н. Оценка воспалительной реакции и митофагии в моноцитах, ТНР-1, гладкомышечных клетках и фибробластах. Клин. эксп. морфология. 2026;15(3):34–47. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.34-47.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00273-П).

Статья поступила 12.03.2026. Получена после рецензирования 02.04.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Assessment of inflammatory response and mitophagy in monocytes, THP-1 cells, smooth muscle cells, and fibroblasts

S.S. Verkhova^{1,2,3}, N.G. Nikiforov^{1,2,3}, A.D. Zhuravlev¹, Y.E. Yegorov³, M.A. Popov⁴,
Y.S. Chegodaev¹, D.B. Erdynееva¹, K.S. Vishnyakova³, U.S. Khovantseva², A.M. Markin^{2,5},
D.G. Breshenkov², E.R. Charchyan², A.N. Orekhov¹

¹Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

²Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Center of Surgery", Moscow, Russia

³Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

⁴Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow, Russia

⁵Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Vascular wall inflammation is a key mechanism of atherogenesis. The vascular wall is composed primarily of endothelial, smooth muscle, and connective tissue cells. During atherogenesis, activated endothelium promotes the recruitment of monocytes into the intima, where they differentiate into macrophages and foam cells, thereby sustaining local inflammation and contributing to the formation of atherosclerotic plaques. At the same time, the relative contribution of individual cell types to shaping the inflammatory response remains insufficiently studied. Under atherogenic conditions, cells are exposed to lipid load, oxidative stress, and hypoxia, which may be accompanied by mitochondrial damage. If damaged mitochondria are not removed in a timely manner by mitophagy, their accumulation may sustain inflammation. Thus, the study aimed to compare the ability of different cellular models to respond to LPS stimulation and assess the feasibility of live-cell visualization of mitochondria and lysosomes in the selected models, which is necessary for mitophagy analysis.

Materials and methods. We used human CD14⁺ monocytes, the monocytic THP-1 cell line, smooth muscle cells, and hTERT 977 fibroblasts. After cell stimulation with LPS at 1 µg/mL for 24 h, we assessed the secretion of TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, and CCL2 in the supernatant with ELISA.

Results. The strongest response to LPS was observed in monocytes and macrophages, whereas smooth muscle cells and fibroblasts secreted only IL-6, IL-8, and CCL2. We also obtained images of live-cell-stained mitochondria and lysosomes for subsequent studies of mitophagy. For THP-1, we additionally tested PMA that increased cell attachment and spreading for confocal imaging. However, treatment with the phorbol ester was associated with a persistent pro-inflammatory background, which complicated the interpretation of LPS-induced inflammation.

Conclusion. The selected models are suitable for quantitative assessment of LPS response, gene expression analysis, and evaluation of mitophagy using confocal microscopy.

Keywords: monocytes, macrophages, smooth muscle cells, fibroblasts, inflammation

Corresponding author: Svetlana S. Verkhova. E-mail: verkhova.svetlana@gmail.com

For citation: Verkhova S.S., Nikiforov N.G., Zhuravlev A.D., Yegorov Y.E., Popov M.A., Chegodaev Y.S., Erdynееva D.B., Vishnyakova K.S., Khovantseva U.S., Markin A.M., Breshenkov D.G., Charchyan E.R., Orekhov A.N. Assessment of inflammatory response and mitophagy in monocytes, THP-1 cells, smooth muscle cells, and fibroblasts. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)34–47. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.34-47.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-15-00273-П.

Received 12.03.2026. **Received in revised form** 02.04.2026. **Accepted** 14.05.2026.

Введение

Атеросклероз остается одной из ведущих причин сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности [1, 2]. Наиболее ранним центральным событием атерогенеза считают накопление липопротеинов в интима сосуда, что сопровождается эндотелиальной активацией и инициацией воспаления, которое может переходить в хроническую форму [3]. По мере прогрессирования в интима артерии формируется атеросклеротическая бляшка с липидным ядром, включающая иммунные клетки, гладкомышечные клетки и клетки соединительной ткани [4].

В исследованиях воспаления при атеросклерозе основное внимание чаще всего уделяют иммунным клеткам. Моноциты рекрутируются из кровотока в сосудистую стенку, где дифференцируются в макрофаги. Макрофаги захватывают липопротеины низкой плотности и формируют пенистые клетки. Эти процессы сопровождаются секрецией провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF), интерлейкины (IL) IL-1β, IL-6, IL-8 и хемокин лиганд 2 (chemokine (C-C motif) ligand 2, CCL2) [5]. В терапии CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study, Исследование эффектив-

ности канакинумаба при лечении тромбоза) было показано, что ингибирование IL-1 β снижало частоту повторных сердечно-сосудистых событий [6]. В другом исследовании пациенты с каротидным атеросклерозом имели более высокий уровень IL-6 в плазме [7]. В исследовании второй фазы RESCUE зилтевекимаб (ингибитор IL-6) снижал маркеры системного воспаления [8]. В настоящее время в исследовании ZEUS оценивают, снижает ли ингибирование IL-6 частоту сердечно-сосудистых событий у пациентов с атеросклерозом [9]. В популяционном исследовании показано, что более высокий уровень CCL2 в крови был ассоциирован с повышенным риском сердечно-сосудистой смертности [10]. Кроме того, показано, что макрофаги, полученные от пациентов с субклиническим атеросклерозом (оценивали по толщине интима-медиа), характеризовались повышенной секрецией CCL2, IL-6, IL-10 [11].

При этом в атерогенезе участвуют не только иммунные клетки, но и клетки сосудистой стенки. Важно, что по мере прогрессирования поражения они могут изменять фенотип и мигрировать в атеросклеротическую бляшку. Так, в мышинной модели атеросклероза на атерогенной диете было показано, что CD26⁺ фибробласты при прогрессировании атеросклероза появлялись в интима и преимущественно локализовались в области фиброзной покрышки [12]. В модели сосудистого повреждения было показано, что активированные адвентициальные фибробласты секретируют IL-6, а их кондиционированная среда стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток *in vitro*, причем при дефиците IL-6 этот эффект исчезал [13]. Гладкомышечные клетки при атеросклерозе не только мигрировали в бляшку, но и накапливали липиды, переходя в пеностоподобное состояние. В lineage-tracing (отслеживание клеточной линии) модели гладкомышечных клеток (Myh11-CreERT2, ApoE^{-/-} на атерогенной диете) было показано, что значительная часть клеток гладкомышечного происхождения в бляшке теряла маркеры гладкомышечных клеток и переходила в модифицированные состояния [14]. Клетки сосудистой стенки способны приобретать воспалительный фенотип, поэтому их ответ на стимулы врожденного иммунитета может быть значим для атерогенеза. Липополисахарид (LPS) активирует TLR4-зависимые сигнальные пути и индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов не только в моноцитах и макрофагах, но и в клетках сосудистой стенки. Однако выраженность такого ответа может существенно зависеть от типа клеток.

Помимо цитокиновых каскадов в патогенезе атеросклероза активно обсуждается роль митохондрий. Для макрофагов показана связь митохондриального повреждения с активацией воспалительного ответа и секрецией IL-1 β , IL-18 на моделях THP-1 и первичных культурах клеток [15]. Drp1 является ключевым белком, регулирующим деление митохондрий. Нарушения

Drp1-зависимой митохондриальной динамики в гладкомышечных клетках были ассоциированы с пролиферацией, миграцией и кальцификацией клеток [16]. Atg7 необходим для удаления поврежденных митохондрий, то есть митофагии. В модели ApoE^{-/-} специфическая делеция Atg7 в гладкомышечных клетках сосудов приводила к нарушению аутофагии и накоплению фрагментированных митохондрий, апоптозу гладкомышечных клеток, что ассоциировалось с дестабилизацией бляшки и утончением фиброзной покрышки [17].

Целью данного исследования было сравнение способности различных клеточных моделей отвечать на стимуляцию LPS, а также оценка возможности прижизненной визуализации митохондрий и лизосом в выбранных моделях, необходимой для анализа митофагии.

Материалы и методы

Исследование проводилось в строгом соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013) и соответствовало руководящим принципам надлежащей клинической практики. Протокол исследования первичных моноцитов был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского (протокол № 8 от 20.05.2020). Исследование первичных гладкомышечных клеток (ГМК) одобрено локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра хирургии имени академика Б.В. Петровского (протокол № 8 от 20.10.2022). Все участники исследования до включения в него добровольно подписали форму информированного согласия, утвержденную в составе протокола исследования этическим комитетом.

Линию фибробластов hTERT 977 (ATCC, США) культивировали в модифицированной среде Дульбекко (DMEM, «ПанЭко», Россия) с низкой глюкозой, дополненной L-глутамином, 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS, «БиолоТ», Россия), 50 ед/мл пенициллином и 50 мкг/мл стрептомицином («ПанЭко», Россия) при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 200 тыс. в 1 мл.

ГМК были получены из аортальной стенки во время операции протезирования аорты и предоставлены сотрудниками I кардиохирургического отделения Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского [18]. Внутреннюю и среднюю оболочки аорты разделяли механическим способом в асептических условиях. Первичную культуру гладкомышечных клеток выделяли из оболочек грудной аорты человека после ферментативной обработки коллагеназой I типа (StemCell Technologies, США) в соответствии с протоколом. Иммунофенотипирование выделенных ГМК проводили методом иммуноцитохимического окрашивания с применением антител против актина альфа 2, MYH11 (myosin heavy chain 11, тяжелая цепь миозина 11) и кальпонина 1 (1:100; Abcam,

Великобритания) по протоколам производителя [18]. В качестве вторичных антител использовали Goat Anti-Mouse IgG H+L (PE) и Goat Anti-Rabbit IgG H+L (FITC) (1:100; Abcam, Великобритания). Ядра клеток докрашивали 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI), после чего препараты заключали в среду Aqueous Mounting Medium (водная среда для монтирования). Анализ и съемку препаратов выполняли с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM4000 B LED (Leica Microsystems, Германия) и программного обеспечения LAS-AF viewer v. 3.1.0 build 8587 (Германия). Клетки культивировали в среде DMEM с L-глутамином и 4,5 г/л глюкозы («ПанЭко», Россия), дополненной 15% FBS, 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 200 тыс. в 1 мл.

Нативную линию THP-1 культивировали в среде RPMI-1640 с L-глутамином («ПанЭко», Россия), дополненной 10% FBS, 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 300 тыс. в 1 мл. Для THP-1 дополнительно тестировали форбол-12-миристинат-13-ацетат (PMA), повышавший прикрепление и распластанность клеток для конфокальной съемки.

CD14+ моноциты выделяли из цельной крови здоровых доноров с использованием магнитной сортировки. Кровь центрифугировали 20 минут при 500 g, без торможения, удаляли плазму, осадок разбавляли PBS («ПанЭко», Россия) и наслаивали на Ficoll («ПанЭко», Россия). После центрифугирования при тех же условиях отбирали лейкоцитарную фракцию и дважды промывали PBS. Клеточный осадок ресуспендировали в растворе Версена («ПанЭко», Россия) с 0,5% FBS (MACS-буфер), добавляли CD14 MicroBeads (Miltenyi Biotec, США) и инкубировали 15 минут при 4°C. Моноциты выделяли с помощью магнитных колонок, затем дважды промывали фосфатно-солевым буфером (PBS). Клетки ресуспендировали в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), дополненной 10% FBS, 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина, L-глутамин 2 мМ («ПанЭко», Россия), заменимых аминокислот 1х («ПанЭко», Россия), пирувата натрия 1х («ПанЭко», Россия), 2-меркаптоэтанол 55 мкМ (Thermo Fisher Scientific, США) и rhGM-CSF 10 нг/мл («СайСтопЛаб», Россия) и культивировали в концентрации 1 млн/мл при 37°C и 5% CO₂.

Было необходимо подобрать клеточные модели для дальнейшего исследования LPS-индуцированного ответа (на уровне секреции цитокинов и экспрессии генов) и для прямого изучения митофагии. Для этого протестировали CD14+ моноциты человека, моноцитарную линию THP-1, ГМК и фибробласты (hTERT 977). Критериями пригодности были воспроизводимая реакция на LPS и совместимость с конфокальной визуализацией митохондрий и лизосом с использованием MitoTracker Green и LysoTracker Deep Red для последующей оценки индуцируемой митофагии.

Для экспериментов по оценке провоспалительной реакции клетки высевали по 200 тыс. в 1 мл (для hTERT 977, ГМК) или по 1 млн в 1 мл (для THP-1, первичных макрофагов) в 24-луночные планшеты (по 1 мл на лунку). Добавляли 1 мкг/мл LPS (Sigma-Aldrich, США) и инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂. Потом отбирали супернатант (суспензионную культуру предварительно центрифугировали) для анализа секреции цитокинов методом ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, иммуноферментный анализ). Для дальнейшего анализа экспрессии генов к клеточному осадку добавляли 1 мл ExtractRNA («Евроген», Россия).

Для оценки воспалительного ответа клетки стимулировали LPS (1 мкг/мл) в течение 24 часов, после чего в супернатанте определяли концентрации TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 методом ELISA (рис. 1). Оценку содержания цитокинов в культуральной жидкости измеряли методом ELISA. Концентрации TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 в культуральной жидкости определяли методом ELISA (R&D Systems, США) согласно протоколу производителя. В качестве субстрата для пероксидазы хрена использовали ТМБ-набор («ИМТЕК», Россия). Реакцию останавливали добавлением серной кислоты («ХимМед», Россия). Оптическую плотность измеряли на микропланшетном считывателе CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия) при длине волны 450 нм с поправкой на 495 нм. Чтобы подтвердить, что LPS-индуцированная секреция цитокинов сопряжена с изменениями на уровне экспрессии, в THP-1 дополнительно измеряли экспрессию генов, соответствующих провоспалительных маркеров после стимуляции различными концентрациями LPS. Результаты сравнивали попарно с контролем.

Для выделения РНК к клеткам добавляли ExtractRNA 200 мкл хлороформа («Экос-1», Россия), перемешивали переворачиванием и инкубировали 10 минут при комнатной температуре. Затем центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Водную фазу переносили в новые пробирки, добавляли 600 мкл изопропанола («Экос-1», Россия) и центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Супернатант удаляли, осадок промывали 75% этанолом, охлажденным до -20°C, и центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Этанол удаляли, осадок сушили 5 минут и растворяли в 22 мкл безнуклеазной воды («ПанЭко», Россия). Для удаления примесей ДНК применяли DNase I (RNase-Free) (New England Biolabs, Великобритания) согласно протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли на NanoPhotometer. Образцы хранили при температуре -70°C.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT kit («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Выполняли отжиг праймера oligo(dT) в течение 2 минут, затем переносили образцы на лед. Далее добавляли реакционную смесь, содержащую 4 мкл 5× First strand buffer, 2 мкл dNTP, 2 мкл DTT и 1 мкл MMLV Reverse Transcriptase.

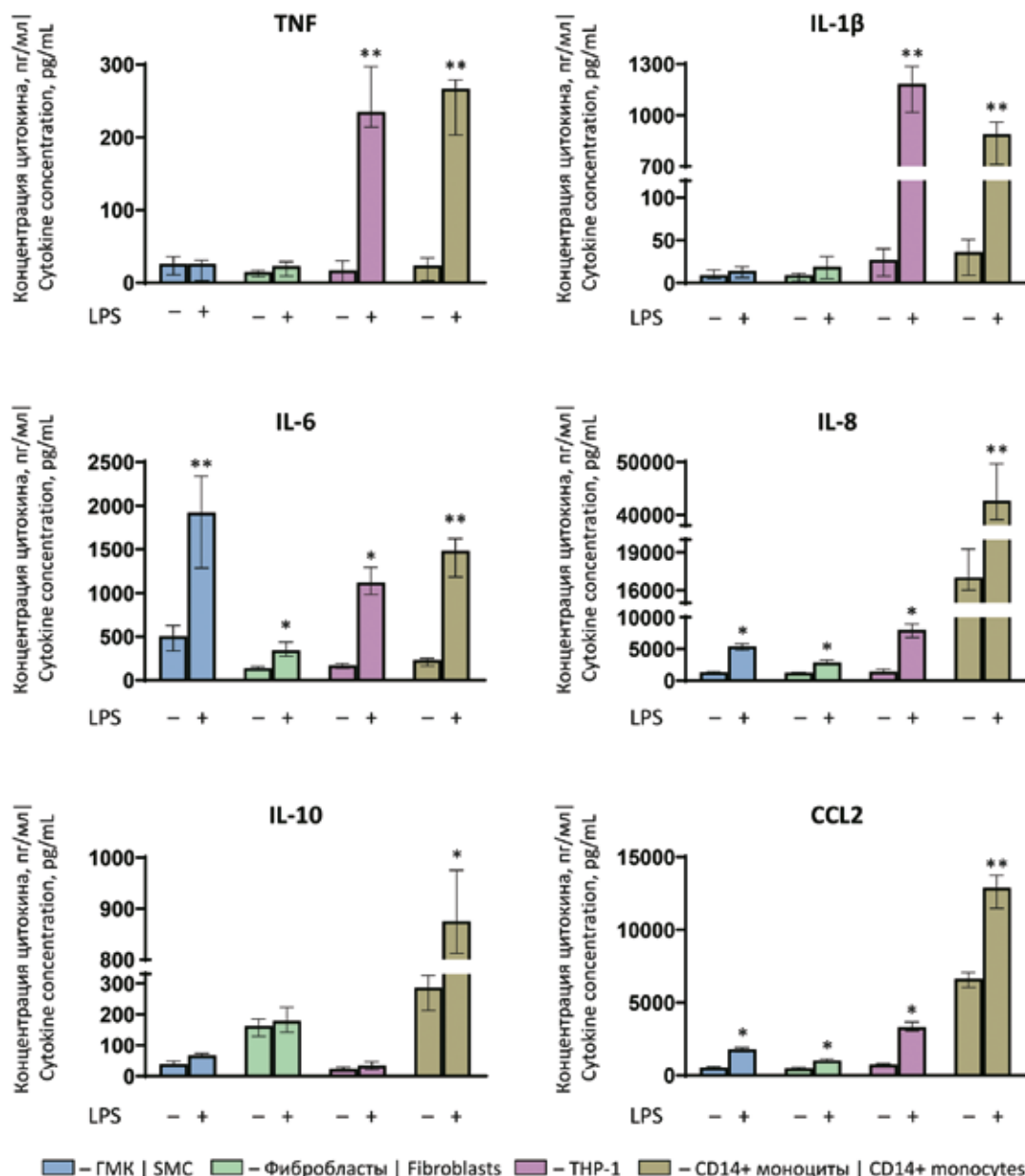


Рис. 1. Секретция цитокинов (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, CCL2) различными типами клеток на фоне стимуляции LPS. Типы клеток (ГМК [голубой], фибробласты [зеленый], THP-1 [сиреневый], CD14+ моноциты [коричневый]). Концентрации указаны в пг/мл. * p<0,05, ** p<0,01; (критерий Манна-Уитни). N=3

Fig. 1. Cytokine secretion (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, and CCL2) by different cell types upon LPS stimulation. Cell types (SMC [blue], fibroblasts [green], THP-1 [lilac], and CD14+ monocytes [brown]). Concentrations are shown in pg/mL. * p<0.05; ** p<0.01 (Mann-Whitney test). N=3

Реакцию проводили на амплификаторе с нагревающейся крышкой при 40°C в течение 1 часа, затем при 70°C в течение 10 минут и охлаждали.

Для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени готовили смесь, содержащую 5 мкл SYBR-mix («Евроген», Россия), 14 мкл воды и праймеры (прямой и обратный) в конечной концентрации 400 нМ. В каждую лунку вносили 5 нг кДНК и 20 мкл реакционной смеси. Условия амплификации: 95°C – 5 минут (95°C – 20 секунд,

59°C – 15 секунд, 72°C – 30 секунд) X 40. В качестве референсного гена использовали RPL37. В работе использовали последовательности праймеров:

TNF (F: GCTTGTCCTCAGCCTCTTCT;
R: GGTTTGCTACAACATGGGCTA),
IL-1β (F: CCAGTGAAATGATGGCTTATTAC;
R: CTGTAGTGGTGGTCGGAGATT),
IL-6 (F: CACAGACAGCCACTCACCTC;
R: TTTTCTGCCAGTGCCTCTTT),
IL-8 (F: AGTTTTTTGAAGAGGGCTGAGAAT;

R: CAACAGACCCACACAATACATGA),
CCL2 (F: TGCCCCAGTCACCTGCTGTTAT;
R: GAATCCTGAACCCACTTCTGCTTG),
RPL37 (F: TGGCTCTAAGGCCTACCACC;
R: GCCTCATTCGACCAGTTCCG).

Для изучения влияния форбол-12-миристат-13-ацетата (PMA) на провоспалительный ответ клетки THP-1 высевали в 24-луночные планшеты по 1 мл на лунку при концентрации 1 млн в 1 мл. В среду добавляли PMA (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 5, 10 или 20 нг/мл и инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂. Через 24 часа культуральную среду отбирали для последующего анализа и заменяли на свежую среду без PMA. Культивирование продолжали еще 48 часов в тех же условиях. Культуральную среду отбирали на 1-е и 3-и сутки от начала стимуляции PMA (соответственно, через 24 часа и 72 часа) и использовали для определения концентраций цитокинов методом ELISA.

Для оценки возможности изучения митофагии и прижизненной конфокальной микроскопии использовали митохондриальный зонд MitoTracker Green (Thermo Fisher Scientific, США) и лизосомальный зонд LysoTracker Deep Red (Thermo Fisher Scientific, США) в конечных концентрациях 100 нМ и 50 нМ, соответственно. Для усиления адгезии и распластности THP-1 клетки стимулировали PMA. Поскольку PMA способен сам по себе запускать провоспалительную секрецию, уровни TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 и CCL2 оценивали через 1 и 3 суток после обработки. Так как клетки находились в монослое распластанные, съемку проводили в X/Y-сечении. Клетки THP-1 инкубировали 30 минут в 2 мл среды с красителями, затем центрифугировали при 300 g в течение 5 минут, удаляли супернатант и ресуспендировали осадок в свежей среде. Полученную суспензию переносили в конфокальную чашку и проводили съемку. Для hTERT 977, ГМК и CD14+ моноцитов клетки предварительно инкубировали в конфокальном планшете в течение 24 часов для прикрепления, затем удаляли супернатант, добавляли 2 мл среды с красителями и инкубировали 30 минут. После инкубации клетки промывали PBS и проводили съемку в среде. Конфокальная съемка проводилась с использованием микроскопа Leica DMi8 STELLARIS (Leica Microsystems, Германия), оснащенного объективом HC PL APO CS2 63 $\times$ /1,40 (иммерсионное масло, показатель преломления 1,518). Изображения регистрировались в режиме X/Y съемки при частоте 600 Гц и времени экспозиции на пиксель 0,21 мкс, без усреднения по линиям и кадрам. Размер диафрагмы pinhole составлял 85,6 мкм ($\approx$ 1 AU). Возбуждение флуоресценции осуществлялось лазерами с длиной волны 488 и 638 нм (мощность 2%). Детекция сигнала проводилась с использованием HyD в диапазонах 494–568 нм (gain 30, offset 0) и 647–787 нм (gain 20, offset 0). Размер изображения составлял 4096 $\times$ 4096 пикселей, размер пикселя – 0,05 мкм. Для анализа колокализации задействовали программ-

ное обеспечение CellProfiler (Imaging Platform Broad Institute, США) [19]. В качестве входных данных загружали три канала изображений: митохондриальный сигнал (MitoTracker Green), лизосомальный сигнал (LysoTracker Deep Red) и канал, содержащий изображение клеток. Для определения границ клеток применяли модуль IdentifyPrimaryObjects, при этом каждая клетка рассматривалась как отдельный объект анализа. Количественную оценку колокализации выполняли при помощи модуля MeasureColocalization, в котором рассчитывали коэффициент Мандерса, отражающий долю митохондриального сигнала, совпадающего с лизосомальным сигналом. Полученные данные экспортировали с использованием модуля ExportToSpreadsheet.

Статистический анализ проводили в IBM SPSS Statistics (IBM, США). Нормальность распределения оценивали, применяя критерий Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные представляли как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего и использовали t-критерий Стьюдента. При ненормальном распределении данные представляли как медиану (Q1; Q3) и применяли тест Уилкоксона для связанных выборок. Уровень статистической значимости принимали равным $p < 0,05$. При сравнении нескольких экспериментальных групп с одной контрольной группой применяли поправку Бонферрони для множественных сравнений. Скорректированный уровень значимости определяли как $0,05/m$, где m – число парных сравнений. Различия считали статистически значимыми при $p_{adj} < 0,05$.

Результаты

На фоне стимуляции LPS клетки демонстрировали разный провоспалительный профиль. В THP-1 повышалась секреция TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 и CCL2. ГМК и фибробласты секретируют IL-6, IL-8 и CCL2. В CD14+ моноцитах повышалась секреция цитокинов TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 (рис. 1).

Данные экспрессии согласовывались с результатами по секреции цитокинов и поддерживали вывод о воспроизводимой LPS-индуцированной активации в этой модели (рис. 2).

ГМК и фибробласты демонстрировали выраженную распластанность. При этом клеток было мало в поле зрения, они сильно различались по размеру, что затрудняло количественную оценку митофагии. Первичные макрофаги также были распластанными, однородными по размеру, их было больше в поле зрения. Клетки THP-1 не распластывались, их было больше в поле зрения, и они были однородными, что удобно для стандартизированного анализа. Расширенная версия конфокальных снимков по отдельным каналам MitoTracker Green, LysoTracker Deep Red и с наложением каналов представлена на рисунке 3.

Отдельные зоны интереса, выделенные справа на рисунке 3, представлены на рисунке 4 с расчетом колокализации по коэффициенту Мандерса (рис. 4 B).

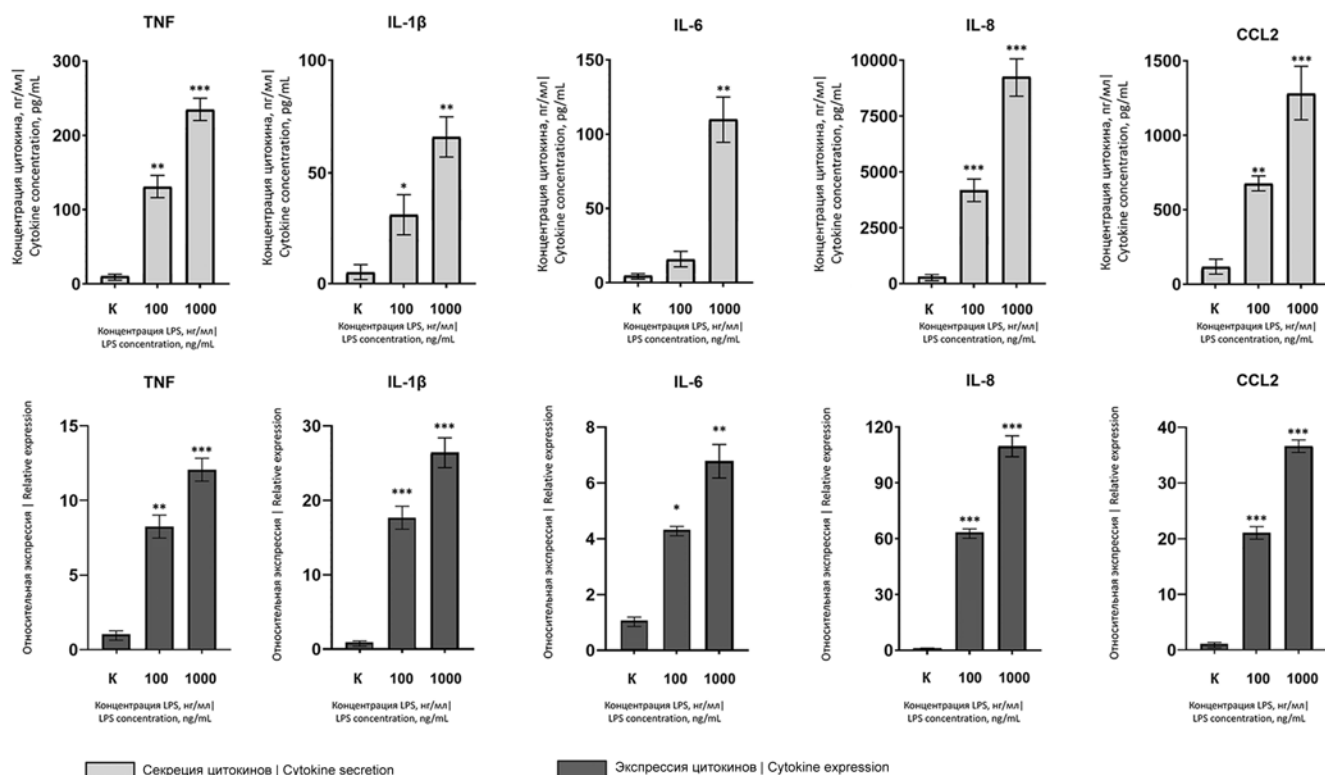


Рис. 2. Секретция и экспрессия цитокинов в ответ на стимуляцию LPS клеточной линией THP-1. На верхних графиках по оси Y – секретция цитокинов TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, CCL2. На нижних графиках относительная экспрессия цитокинов. По оси X – концентрация LPS (контроль, 100 нг/мл, 1000 нг/мл). Данные представлены как среднее ± SEM. Статистическую значимость оценивали при сравнении каждой экспериментальной группы с контролем с использованием t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. * – $p_{adj} < 0,05$, ** – $p_{adj} < 0,01$, *** – $p_{adj} < 0,001$. Представлены данные одного репрезентативного эксперимента из трех

Fig. 2. Secretion and expression of cytokines in response to LPS stimulation by the THP-1 cell line. On the upper graphs, along the Y-axis, is the secretion of the cytokines TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, and CCL2. On the lower graphs, the relative expression of cytokines. On the X-axis, the concentration of LPS (control, 100 ng/mL, 1000 ng/mL). Data are presented as mean ± SEM. Statistical significance was assessed by comparing each experimental group with the control group using Student's t-test with Bonferroni correction for multiple comparisons. Significance levels are indicated as follows: * – $p_{adj} < 0,05$, ** – $p_{adj} < 0,01$, *** – $p_{adj} < 0,001$. Data from one representative experiment out of three are shown

РМА вызывал выраженную провоспалительную активацию, сопоставимую и местами превышающую эффект LPS по уровню секретируемых цитокинов. Кроме того, после обработки РМА сохранялась повышенная концентрация цитокинов IL-8 и CCL2 в супернатанте даже спустя 3 дня вне зависимости от количества добавленного РМА (рис. 5).

Показано, что выбранные модели подходят для количественной оценки LPS-ответа, анализа экспрессии и оценки митофагии с использованием конфокальной микроскопии.

Были подобраны условия, при которых выбранные клеточные модели позволяют проводить комплексный анализ LPS-индуцированного ответа, выполнять конфокальную съемку и оценивать митофагию. Кроме того, секретция цитокинов, количественно измеренная методом ELISA, дополнительно подтверждалась изменениями экспрессии соответствующих генов. Следовательно, данные клеточные модели подходят

для изучения различий в механизмах формирования иммунного ответа.

Обсуждение

В рамках данной работы была проведена оценка LPS-индуцированной секреции цитокинов в нескольких клеточных моделях, включая моноциты, макрофаги, фибробласты и гладкомышечные клетки. Провоспалительные цитокины секретируются не только иммунными клетками, но и клетками сосудистой стенки. Перед запуском исследования по изучению молекулярных механизмов воспаления требовалось подтвердить воспроизводимую реакцию каждой клеточной модели на стимуляцию LPS. В исследовании секретция цитокинов (IL-6, IL-8, CCL2) фибробластами и гладкомышечными клетками воспроизводилась, хотя ее уровень был ниже, чем у моноцитов и макрофагов. Ранее для адвентициальных фибробластов человека было показано, что LPS через TLR4/NF-κB может

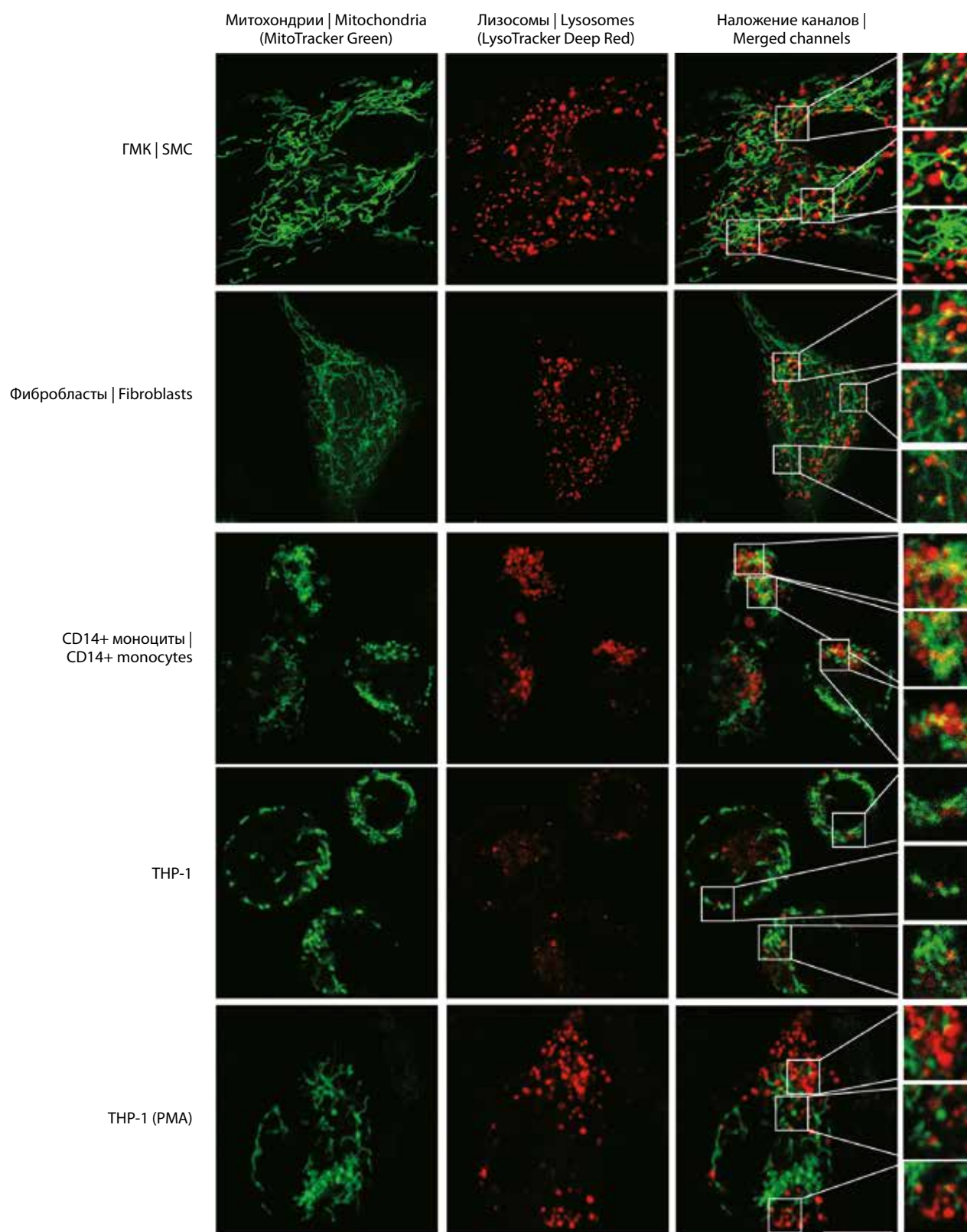


Рис. 3. Конфокальные изображения различных типов клеток. Представлены репрезентативные фотографии каналов и их совмещения в ГМК, фибробластах, CD14+ моноцитах, THP-1, THP-1 (PMA). Митохондрии (MitoTracker Green) отмечены зеленым, лизосомы (LysoTracker Deep Red) красным. Отдельно выделены зоны колокализации митохондрий и лизосом. Масштаб 20 μ m

Fig. 3. Confocal representative images of various cell types show channels and their superposition in SMCs, fibroblasts, CD14+ monocytes, THP-1, and THP-1 (PMA). Mitochondria (MitoTracker Green) are shown in green and lysosomes (LysoTracker Deep Red), in red. Colocalization zones of mitochondria and lysosomes are highlighted separately. Scale bar, 20 μ m

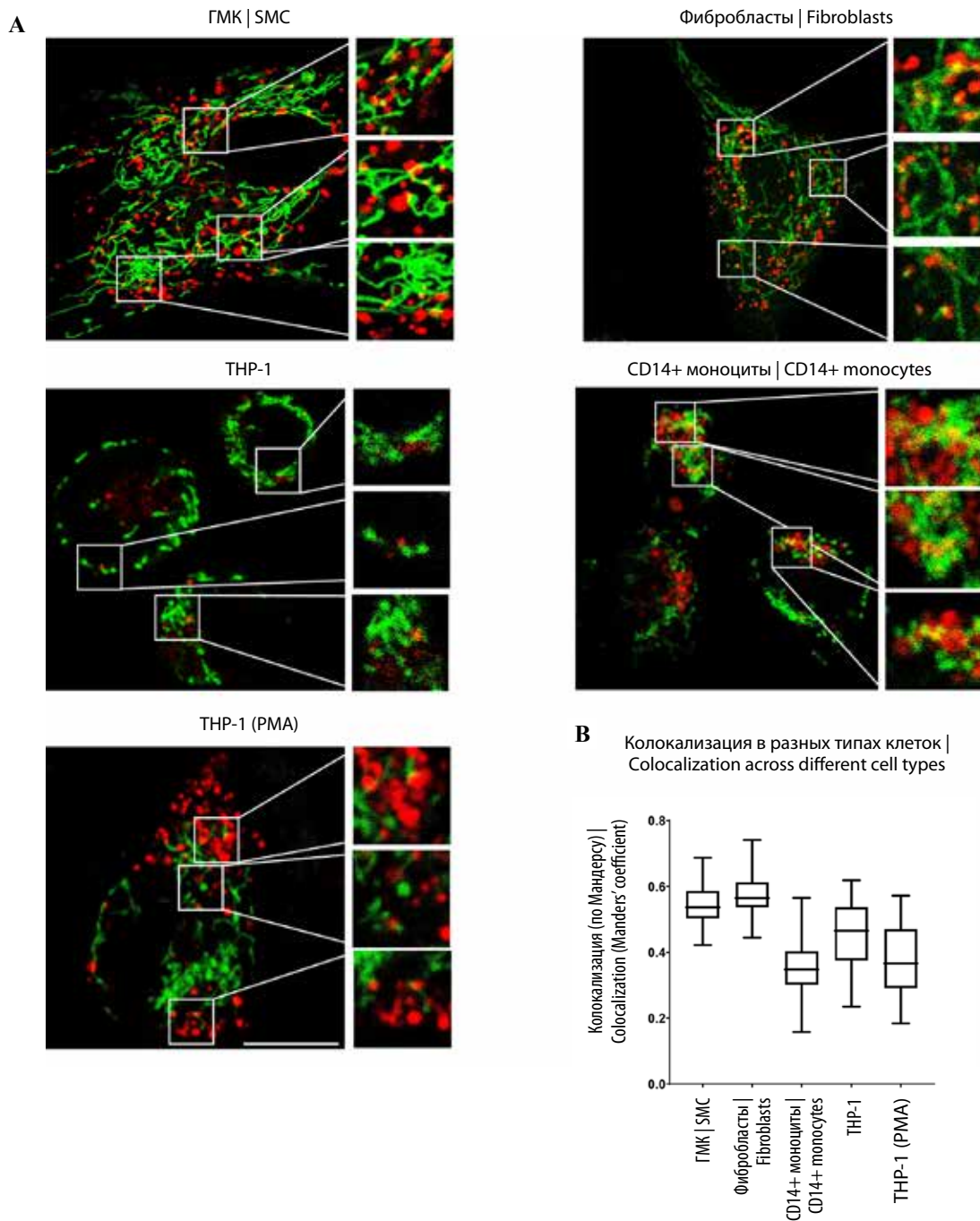


Рис. 4. Конфокальные изображения различных типов клеток.

А – изображения совмещения каналов в ГМК, фибробластов, CD14+ моноцитов, THP-1, THP-1 (PMA). Митохондрии (MitoTracker Green) отмечены зеленым, лизосомы (LysoTracker Deep Red) красным. Отдельно выделены зоны колокализации митохондрий и лизосом. Масштаб 20 μ m. В – уровень митофагии в разных типах клеток. Колокализацию оценивали по коэффициенту Мандерса, рассчитанному как доля сигнала MitoTracker Green, совпадающего с сигналом LysoTracker Deep Red. На диаграмме типа boxplot медиана представлена центральной линией внутри бокса, границы бокса соответствуют первому и третьему квартилям (Q1 и Q3), а усы отражают минимальное и максимальное значения

Fig. 4. Confocal images of different cell types.

A – representative merged-channel images of smooth muscle cells, fibroblasts, CD14+ monocytes, THP-1 cells, and PMA-treated THP-1 cells. Mitochondria stained with MitoTracker Green are shown in green, and lysosomes stained with LysoTracker Deep Red, in red. Regions of mitochondria-lysosome colocalization are highlighted separately. Scale bar, 20 μ m. B – mitophagy levels in different types. Colocalization was assessed using the Manders coefficient, calculated as the proportion of the MitoTracker Green signal that coincides with the LysoTracker Deep Red signal. In the boxplot, the median is represented by the central line within the box, the box boundaries correspond to the first and third quartiles (Q1 and Q3), and the whiskers indicate the minimum and maximum values

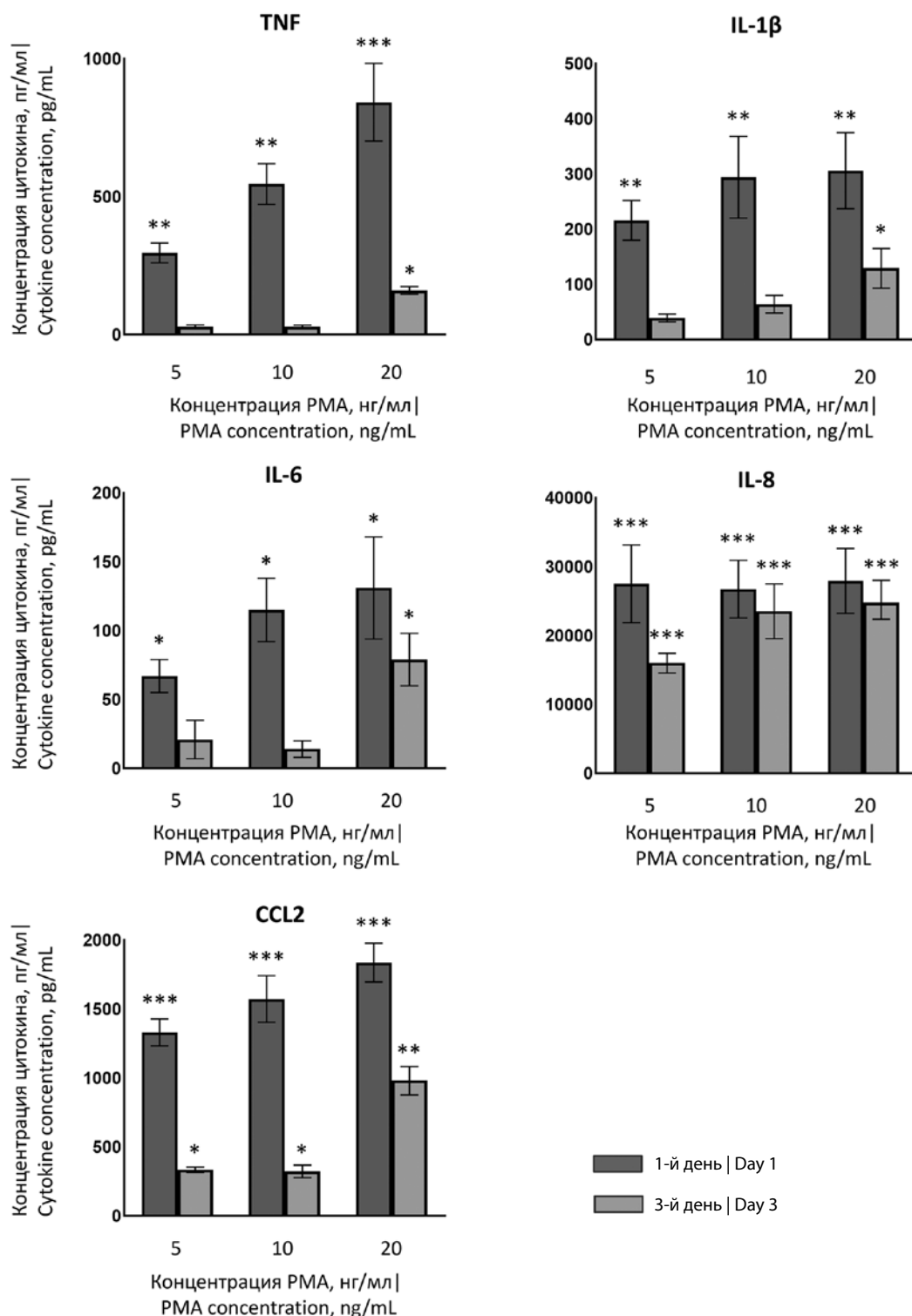


Рис. 5. Секретция цитокинов в ответ на стимуляцию PMA клеточной линией THP-1. По оси X концентрация PMA (5 нг/мл, 10 нг/мл, 20 нг/мл). Темно-серый – спустя 1 день, светло-серый – спустя 3 дня. Секретцию сравнивали с базальным уровнем (не представлен, так как был около нуля). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ по результатам t-критерия Стьюдента. Представлены данные одного репрезентативного эксперимента из трех

Fig. 5. Cytokine secretion in response to PMA stimulation by the THP-1 cell line. The X-axis shows PMA concentration (5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL). Dark gray – day 1, light gray – day 3. Secretion was compared with the basal level (not shown, as it was near zero) * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ according to the results of Student's t-test. Data from one representative experiment out of three are shown

усиливать секрецию CCL2 в супернатанте [20]. Для гладкомышечных клеток (как мышинных, так и человеческих) также показано, что стимуляция LPS индуцировала продукцию IL-6 [21]. Кроме того, в культуре человеческих аортальных адвентициальных фибробластов и гладкомышечных клеток LPS повышал секрецию IL-8, CCL2 и IL-6 [22]. В совокупности это согласуется с представленными данными о том, что гладкомышечные клетки и фибробласты способны повышать секрецию провоспалительных цитокинов в ответ на LPS.

Для задач, связанных с митохондриями и митофагией, было важно подтвердить применимость прижизненной конфокальной визуализации митохондрий и лизосом в разных типах клеток. В других работах на человеческих гладкомышечных клетках митофагию оценивали по набору белковых маркеров (LC3-I/LC3-II, Beclin-1, p62, PINK1, Parkin, VDAC1, Tom20) [23]. В исследованиях на фибробластах у пациентов с тяжелой бронхиальной астмой применяли qRT-PCR, Western blot и иммунофлуоресцентную оценку маркеров [24]. Также для оценки митофагии использовали флуоресцентную метку mt-Keima [25]. В данной работе основной акцент сделан на визуализации. Мы использовали прижизненное окрашивание MitoTracker Green и LysoTracker Deep Red для оценки колокализации митохондрий и лизосом как наглядного клеточного признака митофагии, такой подход уже применяется в опубликованных исследованиях [24, 26].

Для усиления адгезии ТНР-1 в настоящем исследовании использовали РМА. Известно, что РМА-индуцированная дифференцировка ТНР-1 сопровождается изменением цитокинового профиля. В частности, показаны повышение секреции TNF, IL-10 и IFN- γ при добавлении РМА в концентрации 10 нг/мл [27], а также устойчивые изменения уровня экспрессии IL-8 при дифференцировке ТНР-1 [28]. Предполагалось, что минимальная доза РМА (5 нг/мл) и последующий период покоя в течение 3 суток будут достаточны для снижения остаточного эффекта РМА, однако для части цитокинов (IL-6, IL-8, CCL2) сохранялся повышенный уровень секреции, что может усложнять интерпретацию экспериментов, направленных на изучение молекулярных механизмов воспаления.

Закключение

Проведенная работа убедительно демонстрирует, что выбранные клеточные модели позволяют количественно оценивать LPS-индуцированную секрецию цитокинов, сопоставлять ее с изменениями экспрессии генов и выполнять прижизненную конфокальную визуализацию митохондрий и лизосом. Это создает основу для последующих исследований механизмов воспалительного ответа, толерантности и процессов, связанных с митофагией, в разных типах клеток сосудистой стенки и в моноцитах.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров, Е.Е. Егоров, А.Н. Орехов.
Сбор и обработка материала – С.С. Верхова, А.Д. Журавлев, Е.С. Чегодаев, Д.Б. Эрдынеева, М.А. Попов, Х.С. Вишнякова, У.С. Хованцева, А.М. Маркин, Д.Г. Брешенков, Э.Р. Чарчян.
Написание текста – С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров.
Редактирование – Н.Г. Никифоров, А.Д. Журавлев.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov, Y.E. Egorov, A.N. Orekhov.
Collected the data and performed the analysis – S.S. Verkhova, A.D. Zhuravlev, Y.S. Chegodaev, D.B. Erdynееva, M.A. Popov, K.S. Vishnyakova, U.S. Khovantseva, A.M. Markin, D.G. Breshenkov, E.R. Charchyan.
Wrote the paper – S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov.
Edited the manuscript – N.G. Nikiforov, A.D. Zhuravlev.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Институту биологии гена РАН за возможность использовать необходимое оборудование.

Acknowledgment

The authors express their sincere gratitude to the Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences for providing access to the equipment necessary for this research.

Литература/References

1. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(25):2982–3021. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.010.
2. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature.* 2021;592(7855):524–33. DOI: 10.1038/s41586-021-03392-8.
3. Borén J, Chapman MJ, Krauss RM, Packard CJ, Bentzon JF, Binder CJ et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2020;41(24):2313–30. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz962.
4. Depuydt MAC, Prange KHM, Slenders L, Örd T, Elbersen D, Boltjes A et al. Microanatomy of the human atherosclerotic plaque by single-cell transcriptomics. *Circ Res.* 2020;127(11):1437–55. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316770.
5. Groh L, Keating ST, Joosten LAB, Netea MG, Riksen NP. Monocyte and macrophage immunometabolism in atherosclerosis. *Semin Immunopathol.* 2018;40(2):203–14. DOI: 10.1007/s00281-017-0656-7.
6. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med.* 2017;377(12):1119–31. DOI: 10.1056/NEJMoa1707914.
7. Okazaki S, Sakaguchi M, Miwa K, Furukado S, Yamagami H, Yagita Y et al. Association of interleukin-6 with the progres-

- sion of carotid atherosclerosis: a 9-year follow-up study. *Stroke*. 2014;45(10):2924–9. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005991.
8. Ridker PM, Devalaraja M, Baeres FMM, Engelmann MDM, Hovingh GK, Ivkovic M et al. IL-6 inhibition with ziltivekimab in patients at high atherosclerotic risk (RESCUE): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021;397(10289):2060–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00520-1.
 9. Ridker PM, Baeres FMM, Hveplund A, Engelmann MMD, Hovingh GK, Lincoff AM et al. Rationale, design, and baseline clinical characteristics of the Ziltivekimab Cardiovascular Outcomes Trial: interleukin-6 inhibition and atherosclerotic event rate reduction. *JAMA Cardiol*. 2026;11(1):89–97. DOI: 10.1001/jamacardio.2025.4491.
 10. Georgakis MK, de Lemos JA, Ayers C, Wang B, Björkbacka H, Pana TA et al. Association of circulating monocyte chemoattractant protein-1 levels with cardiovascular mortality: a meta-analysis of population-based studies. *JAMA Cardiol*. 2021;6(5):587–92. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.5392.
 11. Nikiforov NG, Kirichenko TV, Kubekina MV, Chegodaev YS, Zhuravlev AD, Ilchuk LA et al. Macrophages derived from LPS-stimulated monocytes from individuals with subclinical atherosclerosis were characterized by increased pro-inflammatory activity. *Cytokine*. 2023;172:156411. DOI: 10.1016/j.cyt.2023.156411.
 12. Bashore AC, Coronel J, Xue C, Zhu LY, Reilly MP. Single-cell multimodal profiling reveals a novel CD26⁺ fibroblast subpopulation in atherosclerosis – brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2025;45(8):1389–97. DOI: 10.1161/ATVBAHA.124.322370.
 13. Dutzmann J, Daniel JM, Korte L, Kloss FJ, Knöpp K, Kalies K et al. Adventitial fibroblasts release interleukin-6 after vascular injury and induce smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *J Am Heart Assoc*. 2025;14(14):e040143. DOI: 10.1161/JAHA.124.040143.
 14. Shankman LS, Gomez D, Cherepanova OA, Salmon M, Alencar GF, Haskins RM et al. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis. *Nat Med*. 2015;21(6):628–37. DOI: 10.1038/nm.3866.
 15. Ding Z, Liu S, Wang X, Dai Y, Khaidakov M, Deng X et al. LOX-1, mtDNA damage, and NLRP3 inflammasome activation in macrophages: implications in atherogenesis. *Cardiovasc Res*. 2014;103(4):619–28. DOI: 10.1093/cvr/cvu114.
 16. Meechem M, Jadli A, Gomes K, Mackay C, Chen Y, Ballasy N et al. Vascular smooth muscle cell phenotypic differentiation and metabolic dysfunction in thoracic aorta atherosclerosis. *Can J Cardiol*. 2022;38(10):S220. DOI: 10.1016/j.cjca.2022.08.206.
 17. Nahapetyan H, Moulis M, Grousset E, Faccini J, Grazide MH, Mucher E et al. Altered mitochondrial quality control in Atg7-deficient VSMCs promotes enhanced apoptosis and is linked to unstable atherosclerotic plaque phenotype. *Cell Death Dis*. 2019;10(2):119. DOI: 10.1038/s41419-019-1400-0.
 18. Khovantseva U, Kiseleva D, Cherednichenko V, Chakal D, Breshenkov D, Markina Y et al. The new perspective on understanding the mechanisms of cardiovascular diseases development. *Sci Rep*. 2025;15(1):26596. DOI: 10.1038/s41598-025-11345-8.
 19. Dunn KW, Kamocka MM, McDonald JH. A practical guide to evaluating colocalization in biological microscopy. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;300(4):C723–42. DOI: 10.1152/ajpcell.00462.2010.
 20. Wang J, Si Y, Wu C, Sun L, Ma Y, Ge A et al. Lipopolysaccharide promotes lipid accumulation in human adventitial fibroblasts via TLR4-NF-κB pathway. *Lipids Health Dis*. 2012;11:139. DOI: 10.1186/1476-511X-11-139.
 21. Lee GL, Wu JY, Tsai CS, Lin CY, Tsai YT, Lin CS et al. TLR4-activated MAPK-IL-6 axis regulates vascular smooth muscle cell function. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1394. DOI: 10.3390/ijms17091394.
 22. Schnittker D, Kwofie K, Ashkar A, Trigatti B, Richards CD. Oncostatin M and TLR-4 ligand synergize to induce MCP-1, IL-6, and VEGF in human aortic adventitial fibroblasts and smooth muscle cells. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:317503. DOI: 10.1155/2013/317503.
 23. He L, Zhou Q, Huang Z, Xu J, Zhou H, Lv D et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy promotes apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation by AMPKα and exacerbates atherosclerotic lesions. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):8668–82. DOI: 10.1002/jcp.27527.
 24. Ramakrishnan RK, Bajbouj K, Hachim MY, Mogas AK, Mahboub B, Olivenstein R et al. Enhanced mitophagy in bronchial fibroblasts from severe asthmatic patients. *PloS One*. 2020;15(11):e0242695. DOI: 10.1371/journal.pone.0242695.
 25. Kelly G, Kataura T, Panek J, Ma G, Salmonowicz H, Davis A et al. Suppressed basal mitophagy drives cellular aging phenotypes that can be reversed by a p62-targeting small molecule. *Dev Cell*. 2024;59(15):1924–39.e7. DOI: 10.1016/j.devcel.2024.04.020.
 26. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*. 2021;17(1):1–382. DOI: 10.1080/15548627.2020.1797280.
 27. Biriken D, Yazihan N, Yılmaz Ş. Investigation of cytokine and midkine responses of human THP-1 leukemia cells induced by phorbol-12-Myristate-13-Acetate (PMA) at different concentrations and times. *Mikrobiyol Bul*. 2018;52(2):147–55. DOI: 10.5578/mb.66745.
 28. Mahmoud L, Al-Enezi F, Al-Saif M, Warsy A, Khabar KS, Hitti EG. Sustained stabilization of interleukin-8 mRNA in human macrophages. *RNA Biol*. 2014;11(2):124–33. DOI: 10.4161/rna.27863.

Информация об авторах

Светлана Сергеевна Верхова – старший лаборант лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии, аспирантка при лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Никита Геннадьевич Никифоров – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии, старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, старший инженер лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Александр Дмитриевич Журавлев – младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Егор Евгеньевич Егоров – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Михаил Александрович Попов – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения кардиохирургии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Егор Сергеевич Чегодаев – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Даяна Батоевна Эрдынеева – старший лаборант лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Хава Сафиулловна Вишнякова – кандидат биологических наук, ведущий инженер лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Ульяна Сергеевна Хованцева – научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Александр Михайлович Маркин – кандидат медицинских наук, руководитель ресурсного центра, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Денис Геннадьевич Брешенков – кандидат медицинских наук, врач-сердечно-сосудистый хирург операционного блока, ведущий научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) Научно-клинического центра № 1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Эдуард Рафаэлович Чарчян – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделением – врач-сердечно-сосудистый хирург, главный научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) Научно-клинического центра № 1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Александр Николаевич Орехов – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Author information

Svetlana S. Verkhova – Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-7953-0586>

Nikita G. Nikiforov – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Senior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Senior Engineer, Laboratory of Cellular Bases of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-2082-2429>

Alexander D. Zhuravlev – Junior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0002-0451-2594>

Yegor E. Yegorov – Dr. Sci. (Biol), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Cellular Foundations of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-5990-4077>

Mikhail A. Popov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Cardiac Surgery, Moscow Regional Research and Clinical Institute.
<https://orcid.org/0000-0002-0316-8410>

Yegor S. Chegodaev – Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0009-0005-7710-2202>

Daiana B. Erdyneeva – Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0003-2279-0157>

Khava S. Vishnyakova – Cand. Sci. (Biol.), Leading Engineer, Laboratory of Cellular Foundations of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-3288-6382>

Ulyana S. Khovantseva – Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-2875-6999>

Alexander M. Markin – Cand. Sci. (Med.), Head of the Resource Center, Leading Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Senior Lecturer, Department of Histology, Cytology and Embryology, Patrice Lumumba Peoples’ Friendship University of Russia.
<https://orcid.org/0000-0002-6649-7924>

Denis G. Breshenkov – Cand. Sci. (Med.), Cardiovascular Surgeon at the Operating Room, Leading Researcher, Cardiosurgery Department (Department of Reconstructive Cardiovascular Surgery) No. 1, Scientific Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-9459-9282>

Eduard R. Charchyan – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department: Cardiovascular Surgeon, Chief Researcher, Cardiosurgery Department (Department of Reconstructive Cardiovascular Surgery) No. 1, Scientific Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-0488-2560>

Alexander N. Orekhov – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0002-6495-1628>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

© Karsuntseva E.K., Voronova A.D., Pokidko V.Yu., Mukhina A.I., Shishkina V.S., Chadin A.V.,
Fursa G.A., Fedorov A.V., Stepanova O.V., Chekhonin V.P., 2026

DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.48-57

Survival, migration, and differentiation of neural stem/progenitor cells in experimental Alzheimer's disease

*E.K. Karsuntseva¹, A.D. Voronova¹, V.Yu. Pokidko^{1,2}, A.I. Mukhina^{1,2}, V.S. Shishkina¹,
A.V. Chadin¹, G.A. Fursa^{1,3}, A.V. Fedorov², O.V. Stepanova¹, V.P. Chekhonin^{1,3}*

¹ V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Alzheimer's disease is a severe neurodegenerative disorder characterized by neuronal loss and brain atrophy. Cell therapy utilizing neural stem/progenitor cells represents a promising approach for its treatment, as these cells may facilitate the regeneration of neural tissue by replacing damaged neurons and glial cells *in vivo*. This study aimed to evaluate the survival, migration, and differentiation of neural stem/progenitor cells derived from the olfactory mucosa in an experimental model.

Materials and methods. Alzheimer's disease was modeled in female rats via stereotaxic injection of β -amyloid 1–42 into the hippocampus. The model was validated using the Morris water maze test. Rat olfactory mucosa neural stem/progenitor cells, labeled with PKH26, were transplanted bilaterally into the CA1 region of the hippocampus.

Results. The cells were shown to survive for up to 4 weeks post-transplantation within the hippocampal region and migrate into the corpus callosum and cerebral cortex. Moreover, the grafted cells exhibited the capacity for glial and neuronal differentiation, as evidenced by the expression of GFAP and β -III-tubulin, respectively.

Conclusion. The survival, migration, and *in vivo* differentiation potential of olfactory mucosa-derived neural stem/progenitor cells support further investigation as a promising tool for personalized cell-based therapies in patients with Alzheimer's disease.

Keywords: neural stem/progenitor cells, olfactory mucosa, β -amyloid 1–42, Alzheimer's disease, cell therapy

Corresponding author: Ekaterina K. Karsuntseva. E-mail: katya.karsunceva@gmail.com

For citation: Karsuntseva E.K., Voronova A.D., Pokidko V.Yu., Mukhina A.I., Shishkina V.S., Chadin A.V., Fursa G.A., Fedorov A.V., Stepanova O.V., Chekhonin V.P. Survival, migration, and differentiation of neural stem/progenitor cells in experimental Alzheimer's disease. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)48–57. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.48-57.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation, grant № 22-15-00141-P.

Received 24.03.2026. **Received in revised form** 31.03.2026. **Accepted** 14.05.2026.

УДК: 57.084.1

Выживаемость, миграция и дифференцировка нейральных стволовых/прогениторных клеток при экспериментальной болезни Альцгеймера

*Е.К. Карсунцева¹, А.Д. Воронова¹, В.Ю. Покидько^{1,2}, А.И. Мухина^{1,2}, В.С. Шишкина¹,
А.В. Чадин¹, Г.А. Фурса^{1,3}, А.В. Федоров², О.В. Степанова¹, В.П. Чехонин^{1,3}*

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Болезнь Альцгеймера – крайне тяжелое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью нейронов и атрофией головного мозга. Перспективным подходом при данной патологии может быть клеточная терапия на основе трансплантации нейральных стволовых/

прогениторных клеток. Они способны стимулировать регенерацию нервной ткани головного мозга, в частности замещать погибшие нейроны и клетки глии *in vivo*. Цель исследования – изучить выживаемость, миграцию и дифференцировку нейральных стволовых/прогениторных клеток обонятельной выстилки при экспериментальной болезни Альцгеймера.

Материалы и методы. Болезнь Альцгеймера моделировали на самках крыс путем стереотаксического введения β -амилоида 1–42 в зону гиппокампа. Валидацию метода проводили с помощью поведенческого теста «водный лабиринт Морриса». Затем меченные витальным красителем РКН26 нейральные стволовые/прогениторные клетки обонятельной выстилки крыс трансплантировали билатерально в зону СА1 гиппокампа.

Результаты. Установлено, что трансплантированные клетки сохраняют жизнеспособность в течение 4 недель после введения в гиппокамп, а также мигрируют в мозолистое тело и кору больших полушарий. Кроме того, выявлена их способность к дифференцировке в глиальном и нейральном направлении, что подтверждается положительной иммуногистохимической реакцией на маркеры GFAP и β -III-тубулин.

Заключение. Полученные данные о выживаемости, миграции и дифференцировке нейральных стволовых/прогениторных клеток обонятельной выстилки *in vivo* открывают перспективы их использования в персонализированной терапии у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Ключевые слова: нейральные стволовые/прогениторные клетки, обонятельная выстилка, β -амилоид 1–42, болезнь Альцгеймера, клеточная терапия

Для корреспонденции: Екатерина Константиновна Карсунцева. E-mail: katya.karsunceva@gmail.com

Для цитирования: Карсунцева Е.К., Воронова А.Д., Покидько В.Ю., Мухина А.И., Шишкина В.С., Чадин А.В., Фурса Г.А., Федоров А.В., Степанова О.В., Чехонин В.П. Выживаемость, миграция и дифференцировка нейральных стволовых/прогениторных клеток при экспериментальной болезни Альцгеймера. Клин. экп. морфология. 2026;15(3):48–57. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.48-57.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00141-П).

Статья поступила 24.03.2026. Получена после рецензирования 31.03.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a severe neurodegenerative disorder that primarily affects individuals over the age of 65 years and is characterized by progressive memory impairment, cognitive decline, and behavioral disturbances [1]. The key distinction between AD and physiological aging lies in the pathological accumulation of β -amyloid plaques in the brain along with the aggregation of hyperphosphorylated tau protein which forms neurofibrillary tangles within neurons [2]. These pathological deposits are considered principal drivers of neuronal loss and synaptic dysfunction [2] and they also trigger neuroinflammatory responses mediated by reactive astrocytes and microglial cells [3]. Collectively, these neurodegenerative processes ultimately result in severe cerebral atrophy.

To date, AD remains incurable. Conventional pharmacological approaches targeting only symptomatic manifestations, as well as recently developed next-generation therapeutics, including anti- β -amyloid antibodies, have failed to restore damaged neural tissue [1, 4]. In this context, cell-based therapy has emerged as a promising avenue for the development of effective AD treatments [5]. Transplanted cells may exert beneficial effects on the local microenvironment through the secretion of neurotrophic factors and anti-inflammatory cytokines *in vivo*, thereby potentially initiating regenerative processes within neural tissue [6].

Neural stem/progenitor cells (NSPCs) are among the most extensively studied cell types for the treatment of neurodegenerative disorders. NSPCs represent multipotent stem cells predominantly localized in the olfactory mucosa, olfactory bulb, subventricular zone, and subgranular zone of the hippocampus [7]. NSPCs have been demonstrated to differentiate into neurons and glial cells, restore the balance of neurotrophic factors, promote neural tissue regeneration, and influence axonal growth and remyelination both *in vitro* and *in vivo*. These cells can be obtained from embryonic, fetal, and postnatal neural tissue, as well as through cellular reprogramming techniques. Numerous preclinical studies using animal models of AD have demonstrated the therapeutic potential of NSPCs [8, 9]. Specifically, NSPC transplantation has been shown to reduce β -amyloid deposition and hyperphosphorylated tau protein levels, enhance synaptic plasticity, and significantly improve cognitive functions in experimental animals [10]. Nevertheless, clinical data on the application of NSPCs in patients with AD remain unavailable.

The olfactory epithelium of the olfactory mucosa (OM) represents a particularly attractive source of NSPCs. OM-derived NSPCs are responsible for the lifelong renewal of olfactory neurons. The pronounced neuroregenerative capacity of these cells provides a strong rationale for their potential application in AD therapy. At the Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky

National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, we have developed a protocol for obtaining adhesive NSPC cultures from the OM, which enables the isolation of highly enriched NSPC populations [11]. The clinical application of NSPCs obtained from adult donors, in contrast to those derived from embryonic or fetal tissues, is not associated with bioethical concerns or legislative restrictions [12, 13]. However, experimental and clinical data regarding the application of OM-derived NSPCs in AD remain scarce; particularly, the survival, migration, and differentiation of these cells following intracerebral transplantation have not yet been investigated.

Therefore, we aimed to evaluate the survival, migration, and differentiation of OM-derived NSPCs in an experimental AD model.

Materials and methods

The study employed analytical-grade plasticware and reagents from Corning (USA), NEST Biotechnology (China), PanEco (Russia), Thermo Fisher Scientific (USA), HyClone (USA), Abcam (Great Britain), and Sigma (USA). The overall experimental design is presented in Figure 1. All procedures were approved by the Local Ethics Committee of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology (protocol dated May 22, 2025)

and performed in accordance with the European Union Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes.

NSPCs were isolated from the olfactory epithelium of adult female Wistar rats ($n=4$). Animals were housed under controlled environmental conditions (21–24°C, 50–70% humidity, a 12-hour light/dark cycle) with ad libitum access to food and water. Adhesive NSPC cultures were obtained according to the protocol developed at the Department of Fundamental and Applied Neurobiology of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology [11].

Cells were cultured in Neurobasal medium supplemented with 2.5% fetal bovine serum, 2% B-27 supplement, 1% penicillin-streptomycin, 1% L-glutamine, 0.1% epidermal growth factor (EGF), and 0.1% fibroblast growth factor (FGF). Phenotypic characterization of cell population was performed by immunocytochemical detection of the principal NSPC markers Sox-2 (a nuclear transcription factor associated with stemness) and nestin (a marker of early neural differentiation), with representative data not shown. NSPCs from passages 1–2 were used for subsequent transplantation into the brains of animals with experimental AD.

Experimental AD was induced in rats ($n=6$) by stereotaxic bilateral injection of synthetic β -amyloid pep-

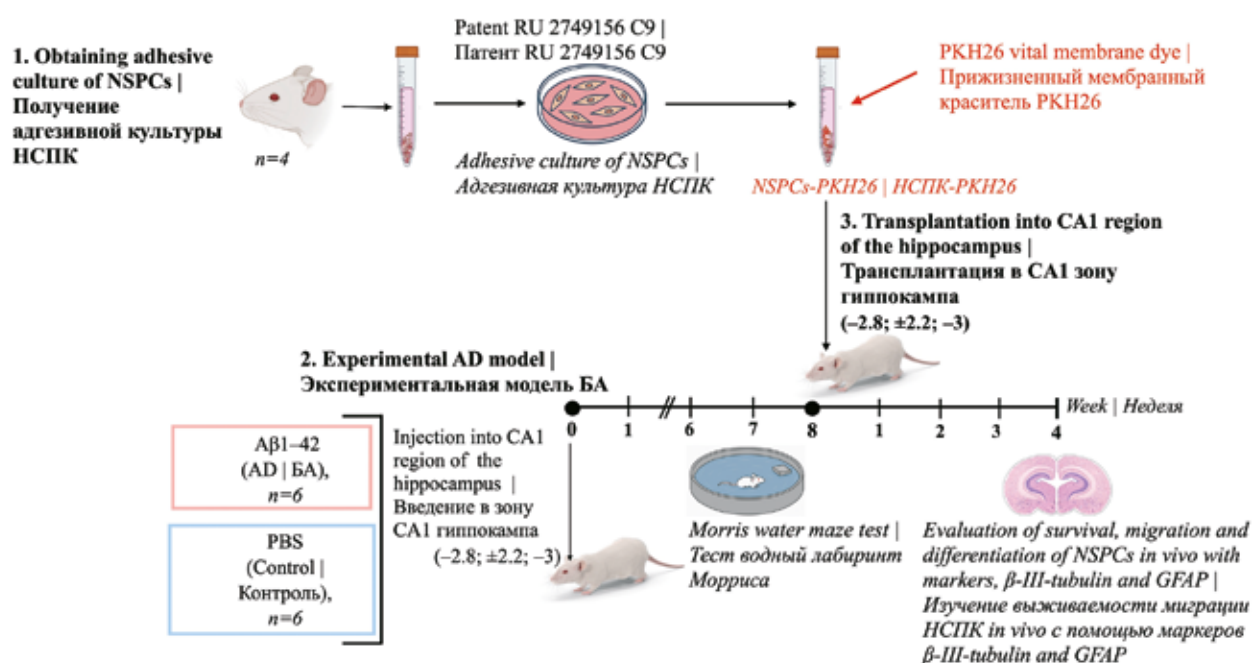


Fig. 1. Experimental design.

1 – obtaining adhesive culture of neural stem progenitor cells (NSPCs). 2 – stereotaxic AD modeling with bilateral Aβ1-42 injection into the hippocampus and validation with Morris water maze test. 3 – transplantation of NSPCs staining with PKH26 (NSPCs-PKH26) into the hippocampus and evaluation of their survival, migration, and differentiation *in vivo*

Рис. 1. Схема эксперимента.

1 – получение адгезивной культуры нейральных стволовых/прогениторных клеток – НСПК. 2 – стереотаксическое моделирование болезни Альцгеймера (БА) путем билатерального введения Aβ1-42 в гиппокамп и валидация модели с помощью поведенческого теста «водный лабиринт Морриса». 3 – трансплантация НСПК, меченных PKH26 (НСПК-ПКН26), в гиппокамп и оценка их выживаемости, миграции и дифференцировки *in vivo*

tide 1–42 (A β 1–42; Elabscience Biotechnology, China) into the CA1 region of the hippocampus using the following coordinates: $-3, \pm 2.2, -3.2$ [14]. Control animals ($n=6$) received phosphate-buffered saline (PBS; PanEco, Russia). Animals were randomly assigned to experimental groups.

Prior to surgery, animals were anesthetized by intraperitoneal injection of a mixture of vesitol (40 mg/kg; Vetstem, Russia) and xylazine (5 mg/kg; Alfasan International B.V., Netherlands). After skull exposure and craniotomy at the specified coordinates, A β 1–42 peptide (1 mg/mL) was injected at a volume of 5 μ L with an infusion rate of 1 μ L/min. Postoperatively, rats received cefazolin (375 mg/kg) as an antibiotic and ketoprofen (5 mg/kg) as an analgesic.

To validate the experimental AD model, we assessed cognitive functions of subjects using the Morris water maze test 8 weeks after A β 1–42 administration. This behavioral paradigm evaluates spatial learning and memory by measuring the ability of animals to locate a submerged platform following a training course [15]. Testing was conducted 48 hours after the final training session. Each rat was allowed 60 seconds to locate the platform.

To evaluate NSPC survival, migration, and differentiation following transplantation into the brains of rats with experimental AD, cells were labeled with the fluorescent membrane dye PKH26 (Invitrogen, USA). PKH26-labeled NSPCs were prepared according to the manufacturer's instructions.

Cells were bilaterally transplanted into the CA1 region of the hippocampus using the same stereotaxic coordinates as those used for A β 1–42 injection during AD modeling ($-3, \pm 2.2, -3.2$). A total of 100,000 cells in 5 μ L were injected at a rate of 1 μ L/min.

We assessed NSPCs survival by immunofluorescence analysis 4 weeks after transplantation. For brain tissue collection, animals were deeply anesthetized by intraperitoneal anesthetic injection, followed by decapitation. The brains were then extracted, fixed in 10% formalin for 24 hours, and subsequently rinsed in PBS. Tissue samples were sectioned using a vibrating microtome (HM650V, Thermo Fisher Scientific, USA) to obtain 30- μ m-thick sections, which were then washed in PBS supplemented with Tween-20 (1 μ L/mL).

For immunofluorescence staining, we used primary antibodies against the neuronal marker β -III-tubulin (1:100; Abcam, UK) and the astrocytic marker GFAP (1:100; Abcam, UK), followed by Alexa Fluor 488- and Alexa Fluor 633-conjugated secondary antibodies (1:500; Thermo Fisher Scientific, USA). Nuclei was counterstained with DAPI (Invitrogen, USA). Samples were examined using a Nikon A1R MP+ laser scanning confocal microscope equipped with a multiphoton module (Nikon, Japan).

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, Dotmatics, USA). Data normality was assessed using the Shapiro–Wilk test, whereas between-group differences were evaluated using Student's t-test for independent samples. The data are presented as

median and interquartile range (IQR). Differences were considered statistically significant at $p<0.05$.

Results

The experimental AD model was validated 8 weeks after A β 1–42 administration into the CA1 region of the hippocampus using the Morris water maze test.

Animals that received A β 1–42 injections exhibited a significantly longer latency to locate the submerged platform (mean: 35 s; Fig. 2) compared to control animals injected with PBS (mean: 8 s). Statistical analysis revealed a highly significant difference between the groups ($p<0.0001$). Thus, these findings confirm that the developed AD model reproduces cognitive impairments characteristic of AD in human patients [3, 14, 16].

The validated model was subsequently used for NSPC transplantation to investigate cell survival, migration, and differentiation *in vivo*, which represent key parameters for evaluating therapeutic efficacy in AD-associated neuropathology.

To the best of our knowledge, this is the first study when OM-derived NSPCs were transplanted into the hippocampus of control animals and those with experimental AD. Four weeks after transplantation, we detected pronounced accumulations of PKH26-labeled cells in the brains of AD animals (Fig. 3). Moreover, we observed migration of transplanted cells to adjacent brain regions, including the corpus callosum and cerebral cortex. Thus, transplanted NSPCs

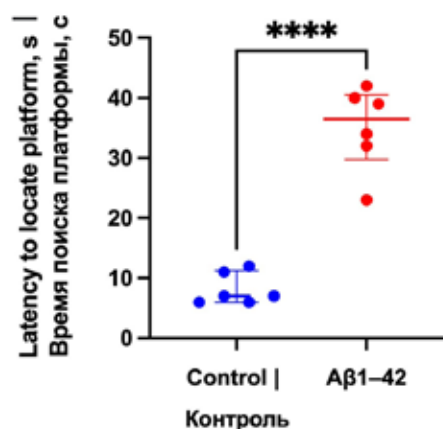


Fig. 2. Validation of the experimental AD model in the Morris water maze test. Control – PBS-injected animals, A β 1–42 – animals with experimental AD. The data are presented as median and interquartile range (IQR)

**** – $p<0.0001$, t-test (parametric one-way ANOVA), normality – Shapiro–Wilk test

Рис. 2. Валидация экспериментальной модели БА в тесте «водный лабиринт Морриса». Контроль – группа животных с введением PBS, A β 1–42 – животные с экспериментальной БА. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха **** – $p<0,0001$, t-тест (параметрический однофакторный дисперсионный анализ), нормальность – тест Шапиро–Уилка

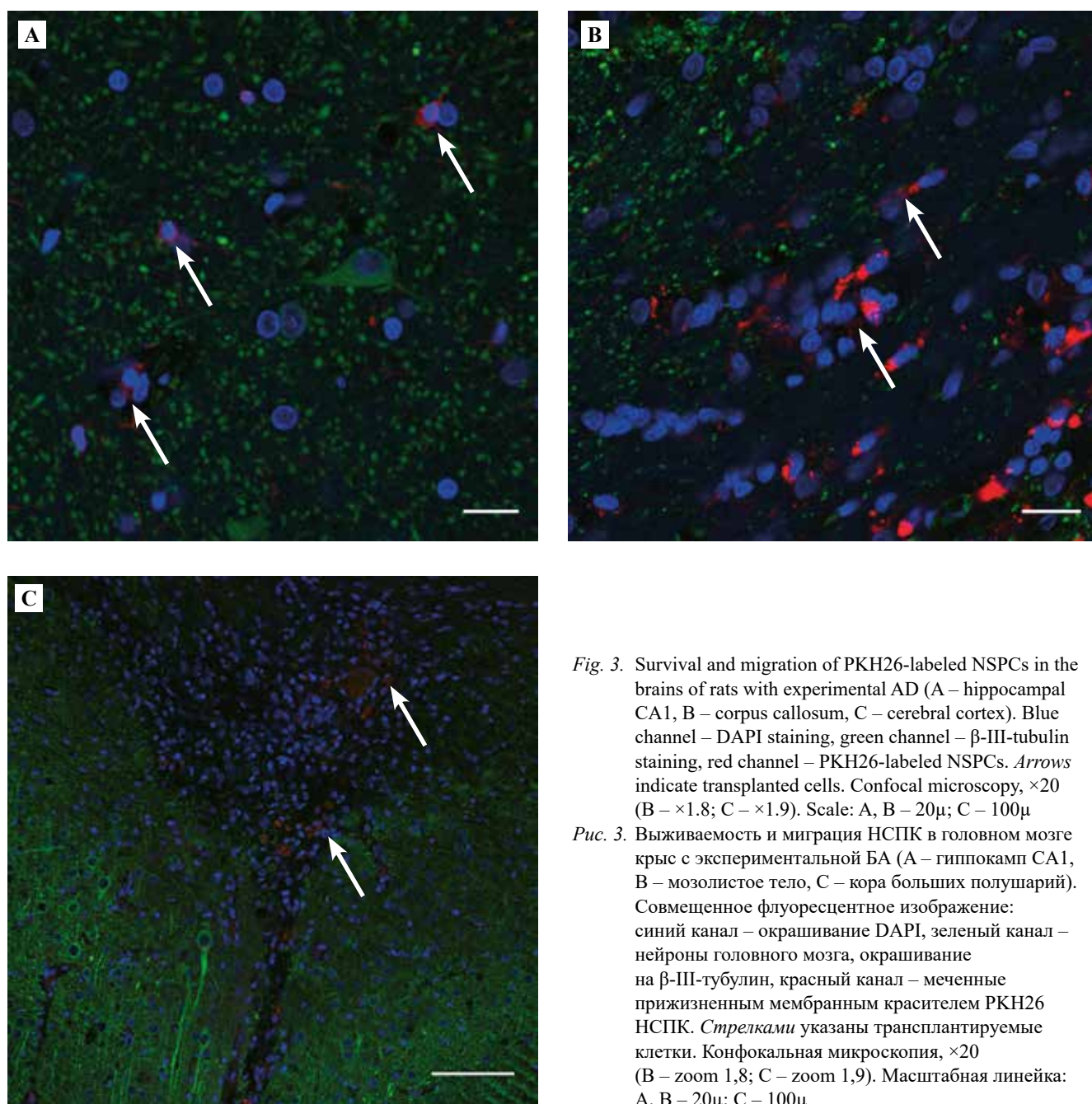


Fig. 3. Survival and migration of PKH26-labeled NSPCs in the brains of rats with experimental AD (A – hippocampal CA1, B – corpus callosum, C – cerebral cortex). Blue channel – DAPI staining, green channel – β -III-tubulin staining, red channel – PKH26-labeled NSPCs. Arrows indicate transplanted cells. Confocal microscopy, $\times 20$ (B – $\times 1.8$; C – $\times 1.9$). Scale: A, B – 20μ ; C – 100μ

Рис. 3. Выживаемость и миграция НСПК в головном мозге крыс с экспериментальной БА (А – гиппокамп CA1, В – мозолистое тело, С – кора больших полушарий). Совмещенное флуоресцентное изображение: синий канал – окрашивание DAPI, зеленый канал – нейроны головного мозга, окрашивание на β -III-тубулин, красный канал – меченные прижизненным мембранным красителем РКН26 НСПК. Стрелками указаны трансплантируемые клетки. Конфокальная микроскопия, $\times 20$ (В – zoom 1,8; С – zoom 1,9). Масштабная линейка: А, В – 20μ ; С – 100μ

demonstrated survival and migration across three distinct brain regions at 4 weeks post-transplantation. NSPC survival within the hippocampus and migration to the cerebral cortex and corpus callosum represents a particularly significant finding, as damage to these brain regions substantially contributes to cognitive deficits in AD [17, 18]. Viable transplanted cells identified within these regions may subsequently exert neuroprotective effects, promote neuroregeneration, and ultimately contribute to the restoration of cognitive functions [19].

We also investigated the ability of transplanted OM-derived NSPCs to differentiate toward neuronal and glial lineages *in vivo*. A subset of PKH26-labeled transplanted

NSPCs was shown to express β -III-tubulin within the rat hippocampus (Fig. 4), suggesting incipient differentiation of transplanted NSPCs toward a hippocampal neuronal phenotype. Notably, at 4 weeks post-transplantation, we did not detect the expression of mature neuronal markers (MAP2, NSE) by transplanted cells, which is likely to indicate a longer time period required for complete neuronal differentiation, which has been reported to range from 8 to 12 weeks [20]. Additionally, we observed expression of the astrocytic marker GFAP in individual NSPCs located within the corpus callosum (Fig. 5), which demonstrates the ability of transplanted NSPCs to undergo glial differentiation.

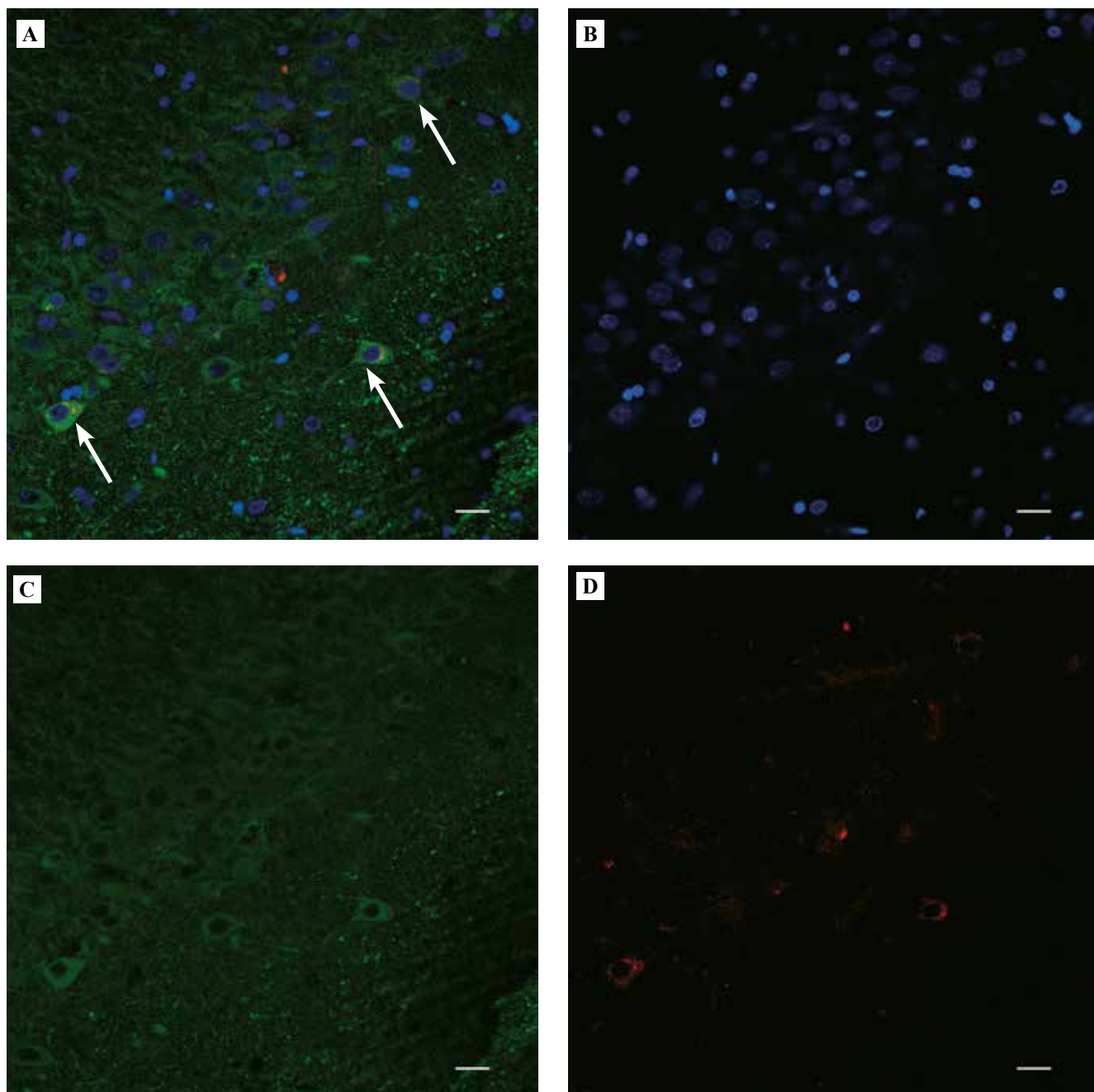


Fig. 4. Differentiation of PKH26-labeled NSPCs (arrows) into immature neurons in the hippocampal region of rats with experimental AD. A – merged image, B – DAPI nuclear staining, C – β -III-tubulin staining, D – PKH26-labeled NSPCs. Confocal microscopy, $\times 20$. Scale – 25μ

Рис. 4. Дифференцировка НСПК (стрелки), меченных прижизненным мембранным красителем РКН26, в головном мозге крыс с экспериментальной БА в незрелые нейроны зоны гиппокампа.

А – совмещенное изображение, В – окрашивание ядер на DAPI, С – окрашивание на β -III-тубулин, D – меченные прижизненным мембранным красителем РКН26 НСПК. Конфокальная микроскопия, $\times 20$. Масштабная линейка – 25μ

Discussion

Our findings on NSPCs survival, migration, and differentiation after intracerebral transplantation are consistent with the existing results demonstrating differentiation toward neuronal and glial lineages using lineage-specific markers [21]. Specifically, mouse ESC-derived NSPCs were demonstrated to survive for 8 weeks, migrate within

the hippocampus, and differentiate into astrocytes (GFAP+) and neuronal precursors (DCX+) after transplantation into the brains of transgenic APdE9 mice with experimental AD [22]. In another study employing the APP/PS1 mouse model of AD, mouse ESC-derived NSCs exhibited migration to the cerebral cortex and differentiation into neurons (Map2+), astrocytes (GFAP+), and oligodendrocytes

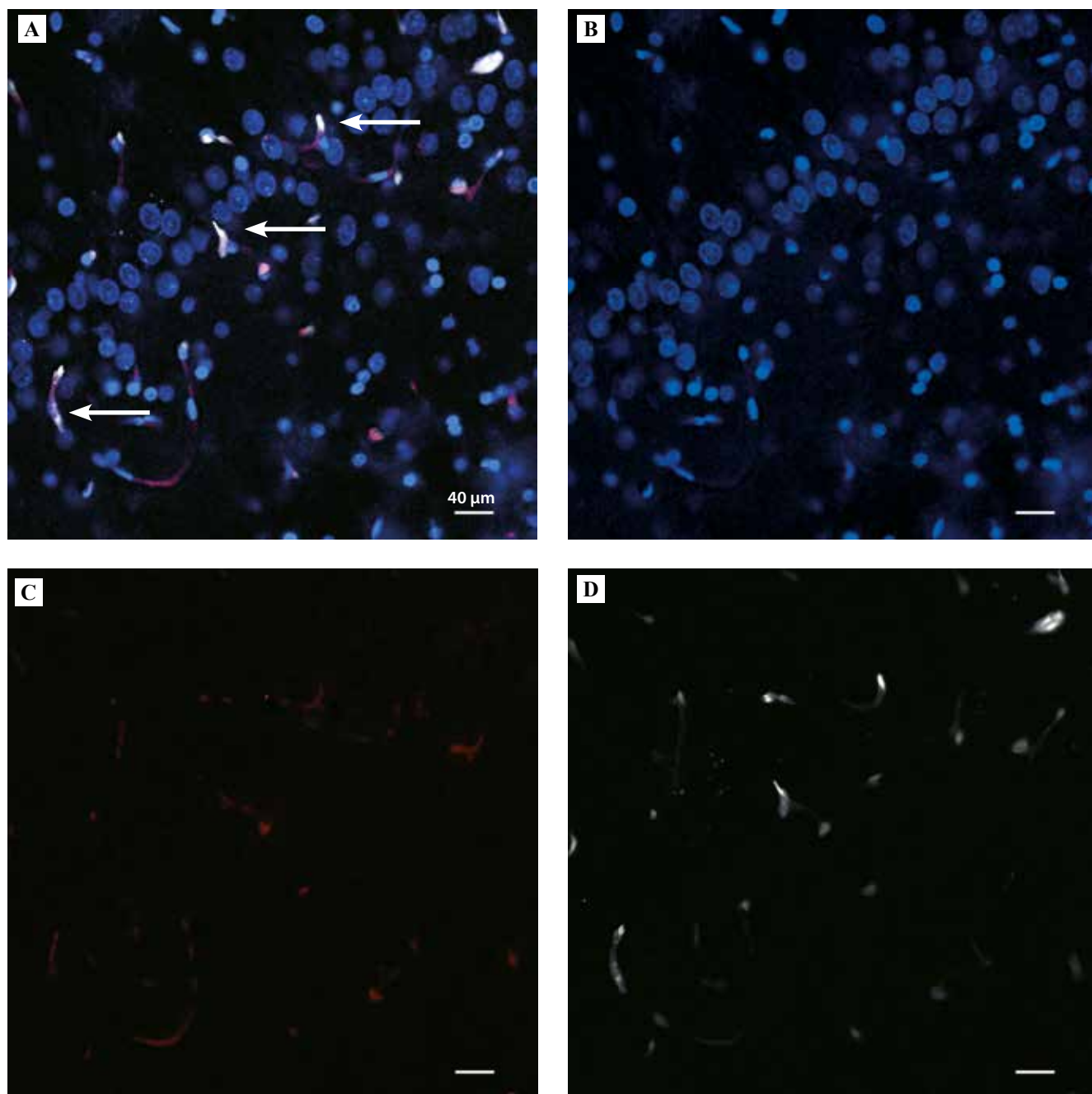


Fig. 5. Differentiation of PKH26-labeled NSPCs (arrows) into the glial lineage in the corpus callosum of rats with experimental AD. A – merged image, B – DAPI nuclear staining, C – PKH-labeled NSPCs, D – astrocyte staining for GFAP. Confocal microscopy, $\times 20$. Scale – 40μ

Рис. 5. Дифференцировка НСПК (стрелки), меченных прижизненным мембранным красителем РКН26, в мозолистом теле головного мозга крыс с экспериментальной БА в глиальную линию. А – совмещенное изображение, В – окрашивание ядер на DAPI, С – трансплантируемые НСПК, меченные РКН26, D – окрашивание астроцитов на GFAP. Конфокальная микроскопия, $\times 20$. Масштабная линейка – 40μ

(GalC+), with a predominant differentiation bias toward glial lineages [23].

NSPCs have low immunogenicity, which may contribute to improved survival after transplantation compared to other cell types [24]. Additionally, NSPCs are capable of regulating neuroinflammation by secreting anti-inflammatory cytokines, thereby reducing microglial activation and

inducing T-cell apoptosis [19, 25, 26]. This may attenuate the immune response to NSPC transplantation and promote neural tissue repair. Having been transplanted into the CNS, NSPCs can positively influence the microenvironment and secrete neurotrophic factors (BDNF, NGF, VEGF, IGF-1, etc.), exerting paracrine and autocrine effects *in vivo* [19]. They also secrete exosomes containing various molecules

(miR-146a, proteins, lipids, microRNAs), which help reduce oxidative stress [19, 26]. The described mechanisms contribute to the survival of transplanted NSPCs and modulate their functional activity in the brain. NSPC migration to sites of neurodegeneration is driven by chemotactic signals secreted by resident CNS cells in the damaged area [8, 19, 26].

Notably, the PKH26 labeling has certain limitations, including non-specific staining of cellular debris and potential dye transfer [27]. However, in our previous research, we demonstrated survival and migration of both PKH26-labeled OECs [14] and OECs with expression of green fluorescent protein (GFP) [28] in CNS. Both approaches yielded comparable results in terms of transplanted cell survival, migration, and localization of transplanted cells in the brain and spinal cord at 4 weeks post-transplantation.

Conversely, certain studies have reported limited survival rates of transplanted NSPCs within the brain. For instance, in a mouse model of hypoxic-ischemic brain injury, up to 90% of transplanted NSPCs underwent caspase-3-dependent apoptosis [29]. However, even dying NSPCs were demonstrated to secrete factors that contribute to neuroprotective effects *in vivo*. Transplantation timing, cell dosage, and the presence of neuroinflammation at the injection site may influence the survival, integration, and microenvironmental effects of transplanted NSPCs [19]. Exogenous administration of neurotrophic factors in conjunction with transplantation of genetically modified cells may enhance cell survival and therapeutic efficacy in AD [30].

Conclusion

The present study demonstrates the survival of olfactory mucosa-derived neural stem/progenitor cells for up to 4 weeks, their directed migration to adjacent brain regions, and their differentiation into neuronal and glial lineages following transplantation into the hippocampus of rats with experimental Alzheimer's disease. These findings support the therapeutic potential of these cells in Alzheimer's disease. The observed differentiation of olfactory mucosa-derived neural stem/progenitor cells into neurons and glial cells after intracerebral transplantation may reflect their intrinsic neuroregenerative capacity in the context of Alzheimer's disease. An additional advantage of employing these cells is the feasibility of obtaining olfactory mucosa biopsies through minimally invasive procedures that do not impair olfactory function. Collectively, these results provide a rationale for further research of olfactory mucosa-derived neural stem/progenitor cells as a basis for personalized therapeutic strategies for Alzheimer's disease.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.K. Karsuntseva, A.D. Voronova, O.V. Stepanova, V.P. Chekhonin.

Collected the data and performed the analysis – E.K. Karsuntseva, V.Yu. Pokidko, A.I. Mukhina, V.S. Shishkina, A.V. Chadin, G.A. Fursa, A.V. Fedorov.

Wrote the paper – E.K. Karsuntseva, A.D. Voronova.

Edited the manuscript – O.V. Stepanova, V.P. Chekhonin.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.К. Карсунцева, А.Д. Воронова, О.В. Степанова, В.П. Чехонин.

Сбор и обработка материала – Е.К. Карсунцева, В.Ю. Покидько, А.И. Мухина, В.С. Шишкина, А.В. Чадин, Г.А. Фурса, А.В. Федоров.

Написание текста – Е.К. Карсунцева, А.Д. Воронова.

Редактирование – О.В. Степанова, В.П. Чехонин.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Acknowledgment

The authors gratefully acknowledge Elena V. Voznyakovskaya, Head of the Experimental and Biological Clinic of the V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, for her assistance with postoperative animal care.

Благодарность

Выражаем признательность руководителю экспериментально-биологической клиники НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского Е.В. Возняковской за помощь в послеоперационном уходе за животными.

References/Литература

- 2025 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2025;21(4):e70235. DOI: 10.1002/alz.70235.
- Kamatham PT, Shukla R, Khatri DK, Vora LK. Pathogenesis, diagnostics, and therapeutics for Alzheimer's disease: breaking the memory barrier. *Ageing Res Rev.* 2024;101:102481. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102481.
- Zhong MZ, Peng T, Duarte ML, Wang M, Cai D. Updates on mouse models of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2024;19(1):23. DOI: 10.1186/s13024-024-00712-0.
- Ou CM, Xue WW, Liu D, Ma L, Xie HT, Ning K. Stem cell therapy in Alzheimer's disease: current status and perspectives. *Front Neurosci.* 2024;18:1440334. DOI: 10.3389/fnins.2024.1440334.
- Svendsen SP, Svendsen CN. Cell therapy for neurological disorders. *Nat Med.* 2024;30(10):2756–70. DOI: 10.1038/s41591-024-03281-3.
- Amemori T, Jendelova P, Ruzicka J, Urdzikova LM, Sykova E. Alzheimer's disease: mechanism and approach to cell therapy. *Int J Mol Sci.* 2015;16(11):26417–51. DOI: 10.3390/ijms161125961.
- Yang L, Liu SC, Liu YY, Zhu FQ, Xiong MJ, Hu DX et al. Therapeutic role of neural stem cells in neurological diseases. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024;12:1329712. DOI: 10.3389/fbioe.2024.1329712.
- Chen X, Jiang S, Wang R, Bao X, Li Y. Neural stem cells in the treatment of Alzheimer's disease: current status, challenges, and future prospects. *J Alzheimers Dis.* 2023;94(s1):S173–86. DOI: 10.3233/JAD-220721.
- McGinley LM, Kashlan ON, Bruno ES, Chen KS, Hayes JM, Kashlan SR et al. Human neural stem cell transplantation improves cognition in a murine model of Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 2018;8(1):14776. DOI: 10.1038/s41598-018-33017-6.
- Zhou Z, Shi B, Xu Y, Zhang J, Liu X, Zhou X et al. Neural stem/progenitor cell therapy for Alzheimer disease in preclinical rodent models: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):3. DOI: 10.1186/s13287-022-03231-1.

11. Stepanova OV, Voronova AD, Fursa GA, Karsuntseva EK, Valikhov MP, Chadin AV et al. Preparation of adhesion culture of neural stem/progenitor cells of the olfactory mucosa for the treatment of spinal cord injuries. *Bull Exp Biol Medicine*. 2020;170(1):158–63. DOI: 10.1007/s10517-020-05023-0.
12. Winiecka-Klimek M, Smolarz M, Walczak MP, Zieba J, Hulas-Bigoszewska K, Kmieciak B et al. SOX2 and SOX2-MYC reprogramming process of fibroblasts to the neural stem cells compromised by senescence. *PLoS One*. 2015;10(11):e0141688. DOI: 10.1371/journal.pone.0141688.
13. Kurata A, Takanashi M, Ohno SI, Fujita K, Kuroda M. Cisplatin induces differentiation in teratomas derived from pluripotent stem cells. *Regen Ther*. 2021;18:117–26. DOI: 10.1016/j.reth.2021.05.005.
14. Karsuntseva EK, Voronova AD, Stepanova OV, Chadin AV, Shishkina VV, Andretsova SS et al. Prospects for the use of olfactory ensheathing cells in the treatment of experimental Alzheimer's disease. *Biotechnology*. 2023;39(2):63–71 (In Russ.). DOI: 10.56304/S0234275823020047.
15. Zubkov EA, Zorkina YA, Gurina OI, Melnikov PA, Morozova AY, Chekhonin VP. Prenatal exposure to brain-specific anion transporter-1-specific monoclonal antibodies impairs cognitive function in post-natal life. *Neuropeptides*. 2017;65:100–5. DOI: 10.1016/j.npep.2017.07.001.
16. Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp*. 2011;(53):2920. DOI: 10.3791/2920.
17. Mouton PR, Martin LJ, Calhoun ME, Dal Forno G, Price DL. Cognitive decline strongly correlates with cortical atrophy in Alzheimer's dementia. *Neurobiol Aging*. 1998;19(5):371–7. DOI: 10.1016/S0197-4580(98)00080-3.
18. Zhu M, Wang X, Gao W, Shi C, Ge H, Shen H et al. Corpus callosum atrophy and cognitive decline in early Alzheimer's disease: longitudinal MRI study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2014;37(3-4):214–22. DOI: 10.1159/000350410.
19. Belousova E, Salikhova D, Maksimov Y, Nebogatikov V, Sudina A, Goldshtein D et al. Proposed mechanisms of cell therapy for Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2024;25(22):12378. DOI: 10.3390/ijms252212378.
20. Aluru K, Dang R, Jin M, Jiang P. Protocol for purifying primitive neural progenitors by fractional passaging to generate astroglia-enriched cerebral organoid. *STAR Protoc*. 2025;6(4):104142. DOI: 10.1016/j.xpro.2025.104142.
21. Moghadam FH, Alaie H, Karbalaie K, Tanhaei S, Nasr Esfahani MH, Baharvand H. Transplantation of primed or unprimed mouse embryonic stem cell-derived neural precursor cells improves cognitive function in Alzheimerian rats. *Differentiation*. 2009;78(2-3):59–68. DOI: 10.1016/j.diff.2009.06.005.
22. Karkkainen V, Magga J, Koistinaho J, Malm T. Brain environment and Alzheimer's disease mutations affect the survival, migration and differentiation of neural progenitor cells. *Curr Alzheimer Res*. 2012;9(9):1030–42. DOI: 10.2174/156720512803569028.
23. Zhang Q, Wu HH, Wang Y, Gu GJ, Zhang W, Xia R. Neural stem cell transplantation decreases neuroinflammation in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2016;136(4):815–25. DOI: 10.1111/jnc.13413.
24. de Almeida MMA, Goodkey K, Voronova A. Regulation of microglia function by neural stem cells. *Front Cell Neurosci*. 2023;17:1130205. DOI: 10.3389/fncel.2023.1130205.
25. Moroz OF, Kravchenko VI, Kushch BO, Zholos AV. Dementia and neurodegenerative diseases: what is known and what is promising at the cellular and molecular level. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2024;135(5):550–60. DOI: 10.1111/bcpt.14087.
26. De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M et al. Neural stem cell transplantation for neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(9):3103. DOI: 10.3390/ijms21093103.
27. Li P, Zhang R, Sun H, Chen L, Liu F, Yao C et al. PKH26 can transfer to host cells in vitro and vivo. *Stem Cells Dev*. 2013;22(2):340–4. DOI: 10.1089/scd.2012.0357.
28. Stepanova OV, Voronova AD, Chadin AV, Fursa GA, Karsuntseva EK, Valikhov MP et al. Neurotrophin-3 enhances the effectiveness of cell therapy in chronic spinal cord injuries. *Bull Exp Biol Med*. 2022;173(1):114–8. DOI: 10.1007/s10517-022-05504-4.
29. Han W, Meißner EM, Neunteufl S, Günther M, Kahnt J, Dolga A et al. Dying transplanted neural stem cells mediate survival bystander effects in the injured brain. *Cell Death Dis*. 2023;14(3):173. DOI: 10.1038/s41419-023-05698-z.
30. Liu KP, Ma W, Li CY, Li LY. Neurotrophic factors combined with stem cells in the treatment of sciatic nerve injury in rats: a meta-analysis. *Biosci Rep*. 2022;42(1):BSR20211399. DOI: 10.1042/BSR20211399.

Author information

Ekaterina K. Karsuntseva – Researcher, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology.
<https://orcid.org/0000-0001-8385-3559>

Anastasia D. Voronova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology.
<https://orcid.org/0000-0002-0654-7483>

Viktoriia Yu. Pokidko – Research Assistant, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology; 1st-year Master's Student, Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University.
<https://orcid.org/0009-0004-9631-0376>

Anna I. Mukhina – Research Assistant, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology; 2nd-year Master's Student, Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University.
<https://orcid.org/0009-0005-3863-0678>

Valentina S. Shishkina – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology.
<https://orcid.org/0000-0002-8505-5769>

Andrey V. Chadin – Researcher, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology.
<https://orcid.org/0000-0001-9377-6673>

Grigori A. Fursa – Junior Researcher, Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology; 4th-year Postgraduate Student, Department of Medical Nanobiotechnology, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-6915-2078>

Artem V. Fedorov – Researcher, Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University.
<https://orcid.org/0009-0004-9875-3306>

Olga V. Stepanova – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Therapy and Regenerative Medicine, Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology.
<https://orcid.org/0000-0003-4863-0442>

Vladimir P. Chekhonin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Fundamental and Applied Neurobiology, V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology; Head of the Department of Medical Nanobiotechnology, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University.
<https://orcid.org/0000-0003-4386-7897>

Информация об авторах

Екатерина Константиновна Карсунцева – научный сотрудник лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского.

Анастасия Денисовна Воронова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского.

Виктория Юрьевна Покидько – лаборант-исследователь лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, магистр 1-го года обучения кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Анна Игоревна Мухина – лаборант-исследователь лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, магистр 2-го года обучения кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Валентина Сергеевна Шишкина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского.

Андрей Викторович Чадин – научный сотрудник лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского.

Григорий Андреевич Фурса – младший научный сотрудник лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, аспирант 4-го года обучения кафедры медицинских нанобиотехнологий РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Артём Валерьевич Федоров – научный сотрудник кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Ольга Владиславовна Степанова – кандидат биологических наук, руководитель лаборатории клеточной терапии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского.

Владимир Павлович Чехонин – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, руководитель отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии НМИЦ психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, заведующий кафедрой медицинских нанобиотехнологий РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Генерализованная форма ветряной оспы на фоне сахарного диабета 1-го типа

М.В. Егоров^{1,2}, Ю.А. Ковалева¹, Г.Р. Сетдикова¹, Л.Ф. Скляр¹, И.В. Комердус¹

¹ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского (МОНИКИ), Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Ветряная оспа относится к группе острых вирусных заболеваний и встречается преимущественно у детей, однако иногда поражает и взрослых. Наиболее часто это происходит при злокачественных опухолях, острых инфекциях, включая ВИЧ-инфекцию, ревматоидном артрите и длительном стрессе. В условиях тяжелого течения могут развиваться энцефалит и полиорганная недостаточность. Представлен клинический анализ смертельного исхода у взрослого пациента с генерализованной ветряной оспой, развившейся на фоне иммунодефицита, обусловленного сахарным диабетом 1-го типа. Особенности течения ветряной оспы у данного пациента являлись доминирование висцеральных проявлений и позднее присоединение кожных поражений в виде папуло-везикулезной сыпи. Случай демонстрирует сложность диагностики, нетипичное клиническое течение и быстрое прогрессирование ветряной оспы при сахарном диабете 1-го типа. В статье кратко освещены вопросы этиологии и эпидемиологии заболевания, изложены клинические признаки. Для анализа редкого случая использовались данные истории болезни, результаты лабораторно-инструментальных и морфологических исследований.

Ключевые слова: ветряная оспа, сахарный диабет 1-го типа

Для корреспонденции: Галия Равиловна Сетдикова. E-mail: galiya84@mail.ru

Для цитирования: Егоров М.В., Ковалева Ю.А., Сетдикова Г.Р., Скляр Л.Ф., Комердус И.В. Генерализованная форма ветряной оспы на фоне сахарного диабета 1-го типа. Клин. эксп. морфология. 2026;15(3):58–64. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.58-64.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 21.01.2026. Получена после рецензирования 11.02.2026. Принята в печать 16.02.2026.

Varicella in a patient with type 1 diabetes mellitus

M.V. Egorov^{1,2}, Yu.A. Kovaleva¹, G.R. Setdikova¹, L.F. Sklyar¹, I.V. Komerdus¹

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow, Russia

² Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery", Moscow, Russia

Abstract. Chickenpox is an acute viral disease that predominantly occurs in children, but may also affect adults. Severe forms of the disease are in patients with malignant tumors, acute infections such as HIV infection, rheumatoid arthritis, and prolonged stress. Severe cases can be complicated by encephalitis and multiple organ failure. This article presents a clinical analysis of a fatal outcome of generalized varicella in an adult patient with type 1 diabetes mellitus. The disease was characterized by predominant visceral manifestations and delayed appearance of skin lesions in the form of papulovesicular rash. This case demonstrates the diagnostic challenges, atypical clinical presentation, and rapid progression of varicella in patients with type 1 diabetes mellitus. The article briefly reviews the issues of the etiology and epidemiology of varicella and summarizes its clinical signs. The analysis of this rare case was based on medical history and the results of laboratory, instrumental, and morphological studies.

Keywords: varicella, type 1 diabetes

Corresponding author: Galiya R. Setdikova. E-mail: galiya84@mail.ru

For citation: Egorov M.V., Kovaleva Yu.A., Setdikova G.R., Sklyar L.F., Komerdus I.V. Varicella in a patient with type 1 diabetes mellitus. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)58–64 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.58-64.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 21.01.2026. Received in revised form 11.02.2026. Accepted 16.02.2026.

Введение

Ветряная оспа (ветрянка, *varicella*) является острым высококонтагиозным инфекционным заболеванием, передающимся воздушно-капельным путем, и характеризуется лихорадкой и полиморфной сыпью. Ей подвержены люди любого возраста, однако развивается она преимущественно у детей от 1,5–2 до 10 лет и в большинстве случаев протекает легко, без осложнений. Инфекционный агент проникает через слизистую верхних дыхательных путей, далее попадает в кровоток и распространяется по всем системам. Возбудителем ветряной оспы является вирус варицелла-зостер (*Varicella Zoster*, ВВЗ), относящийся к группе ДНК-содержащих вирусов, известный как вирус герпеса человека 3-го типа, он проявляет тропность к эпителию кожи и слизистых, что и определяет основные клинические проявления болезни в виде экзантемы и энантемы. После перенесенной ветряной оспы (обычно в детстве) ВВЗ пожизненно персистирует в организме в латентном состоянии, скрываясь от иммунных механизмов в ганглиях центральной и вегетативной нервной системы. При этом нередко в результате эндогенной реактивации вирус вновь приобретает инфекционные свойства и вызывает опоясывающий герпес (*herpes zoster*) – тяжелую патологию, чаще встречающуюся у людей пожилого и преклонного возраста, а также у лиц с признаками иммунодефицита (ВИЧ-инфицированных, реципиентов органов и тканей, пациентов с онкологическими заболеваниями и др.). Несмотря на то, что ветряная оспа широко распространена среди детей и протекает преимущественно благоприятно, для взрослых она представляет серьезную угрозу. По данным литературы, у взрослых инфекция может приводить к разнообразным осложнениям и даже летальному исходу, в том числе у изначально здоровых людей [1–3]. По данным ВОЗ, ежегодно в мире более 4 млн пациентов госпитализируются с тяжелыми и осложненными формами ветряной оспы, а более 4 тысяч случаев заканчивается смертью. Быстрая генерализация ВВЗ, его цитопатический эффект, способность к пожизненной интратекальной персистенции, тропность к эндотелию сосудов с развитием васкулопатий повышают вероятность тяжелого течения и развития полиорганной недостаточности с преимущественным поражением печени, легких, центральной нервной системы, нередко приводя к летальному исходу [4–5].

Клиническое наблюдение

Исследование одобрено независимым комитетом по этике Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского (протокол № 22 от 18.12.2025).

Приводим наблюдение генерализованной формы ветрянки у совершеннолетнего пациента (до 30 лет) на фоне длительно текущего сахарного диабета (СД) 1-го типа с неудовлетворительным контролем гликемии. Согласно данным анамнеза, диагноз «сахарный

диабет 1-го типа» был поставлен в подростковом возрасте, а продолжительность заболевания на момент госпитализации составляла около шести лет. На протяжении всего этого периода стабильная компенсация углеводного обмена не достигалась: уровень гликемии колебался в пределах 3–27 ммоль/л, а концентрация гликированного гемоглобина находилась на уровне 9–13%. В дебюте заболевания и в дальнейшем пациент неоднократно госпитализировался по месту жительства в состоянии кетоацидоза, несмотря на проведенное обучение правилам коррекции доз инсулина. Кроме того, СД 1-го типа осложнился сенсорной формой диабетической дистальной нейропатии.

Наблюдаемый был экстренно госпитализирован в стационар по месту жительства с кетоацидозом, возникшим на фоне нарушения и последующей самостоятельной отмены инсулинотерапии. В период пребывания в больнице повышение температуры или признаки острой респираторной вирусной инфекции не отмечались. Несмотря на возобновление инсулинотерапии и проводимую интенсивную патогенетическую, симптоматическую, антибактериальную терапию, на протяжении нескольких дней наблюдалось ухудшение состояния: повышение уровня креатинина с 87,5 до 411 мкмоль/л, мочевины с 1,93 до 18,2 ммоль/л, прогрессировали явления полиорганной недостаточности, что в дальнейшем потребовало перевода на искусственную вентиляцию легких и госпитализации в отделение реанимации многопрофильного научно-исследовательского института. На пятый день пребывания в отделении реанимации на коже волосистой части головы появились высыпания. Процесс носил островоспалительный характер, отмечались высыпания на разных стадиях развития: пятна, папулы, везикулы, часть из которых была с серозно-гнойным и геморрагическим содержимым, в отдельных очагах визуализировались участки некроза, что соответствовало клиническим проявлениям ветряной оспы. В течение дня высыпания распространились на другие участки кожного покрова – лицо, туловище, конечности. Был назначен тест полимеразной цепной реакции содержимого пузырька на ВВЗ. Ввиду прогрессирования заболевания на седьмые сутки пребывания в стационаре пациенту назначен ацикловир внутривенно 5 мг/кг массы тела и человеческий интерферон-альфа рекомбинантный 3 млн МЕ 3 раза в день. По результатам микробиологических исследований в крови отмечался рост стафилококка, в бронхиальном альвеолярном лаваже – рост полирезистентных клебсиеллы, синегнойной палочки.

При проводимой симптоматической и противовирусной терапии значимой положительной динамики состояния не было: сохранялись выраженные явления энцефалопатии, потребность в вазопрессорной поддержке, отмечались гипертермия до 39°C, ухудшение респираторного статуса на фоне двусторонней полисегментарной вирусно-бактериальной деструктивной пневмонии, что в сочетании с сепсисом и септическим

шоком обуславливало тяжесть состояния. Несмотря на проводимую интенсивную терапию, пациенту прогрессивно становилось хуже, что привело к летальному исходу на четырнадцатые сутки госпитализации.

С учетом эпидемиологического анамнеза (высокий уровень распространения заболевания по месту проживания, отсутствие данных о вакцинации и перенесенной в детском возрасте ветрянке), типичных клинических проявлений был поставлен заключительный клинический диагноз.

Основное заболевание: сахарный диабет, 1-й тип. E10.1.

Конкурирующее заболевание: ветряная оспа, тяжелое течение. B01.2.

Осложнения. Диабетический кетоацидоз тяжелой степени. Гиперосмолярный синдром. Острое повреждение почек 2-й степени на фоне хронической болезни почек. Вирусный менингоэнцефалит. Двусторонняя вирусно-бактериальная полисегментарная деструктивная пневмония, тяжелое течение. Острый респираторный дистресс-синдром. Двусторонний малый гидроторакс. Спонтанный двусторонний пневмоторакс. Подкожная эмфизема. Сепсис. Септический шок, развившийся на фоне прогрессирующей инфекции. Полиорганная недостаточность (дыхательная, сердечно-сосудистая, почечная, церебральная, кишечная). Реактивный панкреатит. Асцит. Отек легких. Отек головного мозга.

Интенсивная терапия: искусственная вентиляция легких, трахеостомия, длительная вазопрессорная поддержка, установка назоинтестинального зонда.

Сопутствующий диагноз: хронический пиелонефрит, обострение.

Результаты патологоанатомического исследования

В ходе аутопсии на коже волосистой части головы, лица, туловища и конечностей отмечены множественные везикулезные высыпания на разных стадиях развития с наличием серозного, серозно-гнойного содержимого. Аналогичные высыпания были обнаружены на слизистой оболочке ротоглотки в виде мелких папул

и эрозий. В головном мозге признаки отека. В области верхушки сердца выявлен очаг 0,5 см, заполненный детритом. Слизистая оболочка трахеи гиперемирована, с язвенным дефектом, покрытым грязно-серым налетом. Ткань легких неравномерно уплотнена, на разрезах темно-красного цвета, резко полнокровная, с множественными тусклыми очагами серого цвета с красным венчиком, с мелкими абсцессами. На слизистой пищевода и желудка множественные эрозии и острые язвы до 0,5 см.

При микроскопическом исследовании в головном мозге периваскулярный и перичеллюлярный отек, участки разрежения вещества головного мозга с рассеянной моноклеарной инфильтрацией (рис. 1). В миокарде морфологическая картина диффузного серозного воспаления с рассеянной моноклеарной инфильтрацией, острый абсцесс. В ткани легкого отек, в мелких сосудах фибриновые тромбы, гиалиновые мембраны, фокусы геморрагического инфаркта. Морфологическая картина присоединившейся вторичной инфекции в виде двусторонней мелкоочаговой абсцедирующей пневмонии, фибринозно-гнойный плеврит. В трахее десквамация эпителия, на слизистой оболочке множественные язвы, распространяющиеся до подслизистого слоя с перифокальной смешанно-клеточной воспалительной инфильтрацией (рис. 2). В слизистой желудка острые язвы и микроабсцессы. При микроскопическом исследовании печени выявлены белковая дистрофия гепатоцитов, полнокровие центральных отделов долек с кровоизлияниями и централобулярными некрозами (рис. 3). В коже элементы сыпи представлены экзантемой с отслойкой эпидермиса и формированием полости, содержащей серозную жидкость, лейкоциты, эозинофильный детрит и многоядерными гигантскими клетками с вирусными включениями (рис. 4).

Патологоанатомический диагноз

Основное заболевание: сахарный диабет 1-го типа. Диабетическая нефропатия. Конкурирующее заболевание: ветряная оспа, генерализованная форма с по-

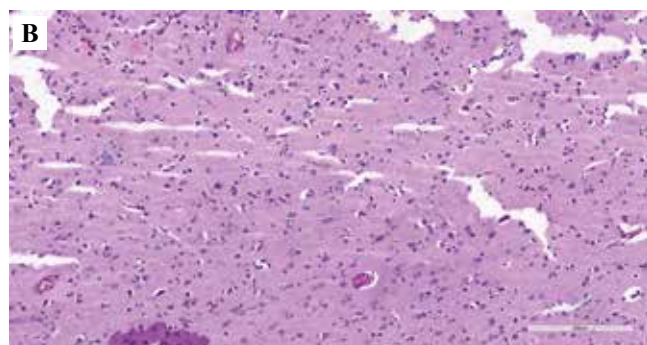
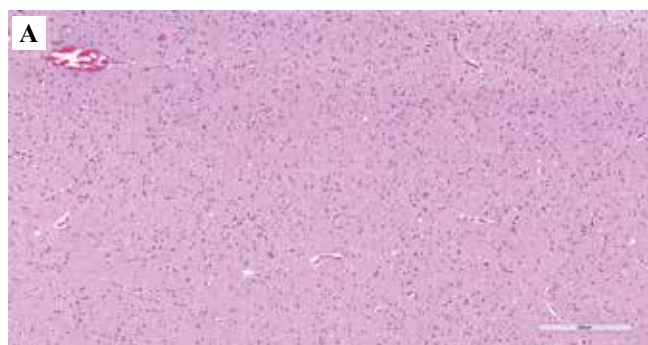


Рис. 1. Головной мозг. Периваскулярный, перичеллюлярный отек с участками разрежения белого вещества (А) и рассеянной моноклеарной инфильтрацией (В). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 1. Brain. Perivascular and pericellular edema with areas of white matter rarefaction (A) and scattered mononuclear infiltration (B). H&E stain, $\times 400$

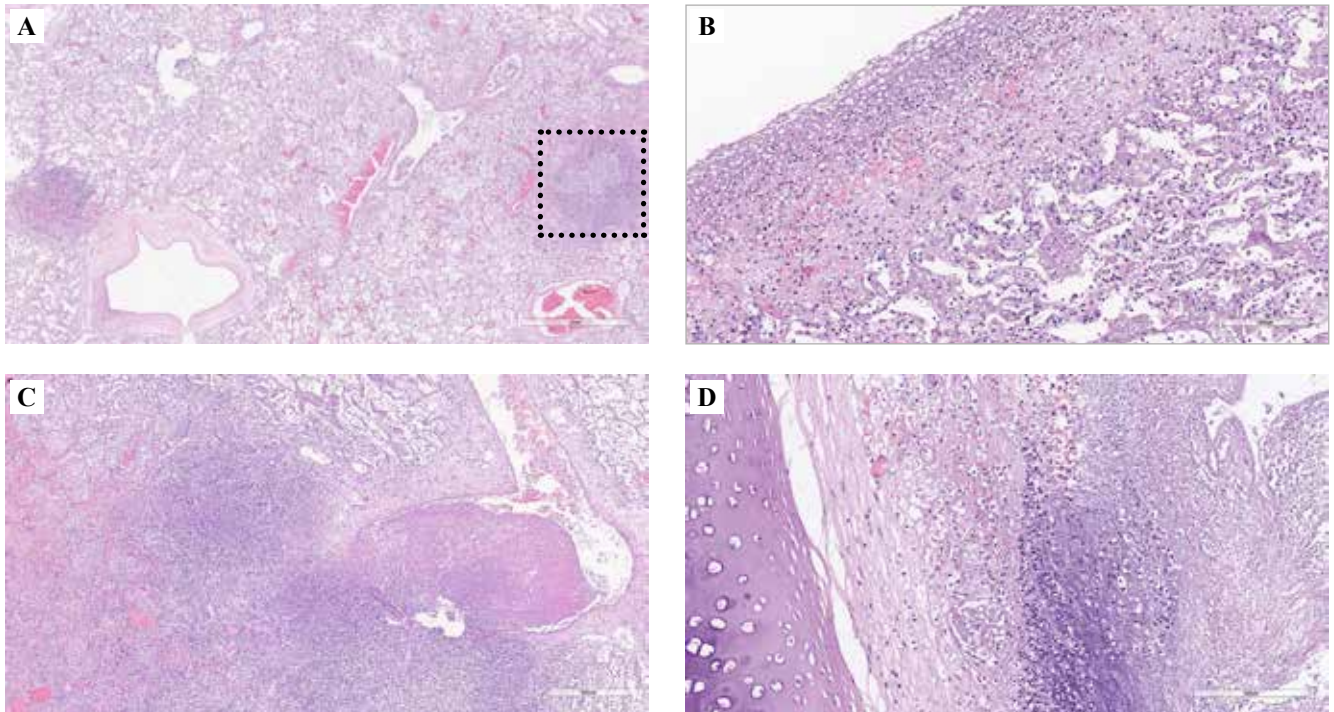


Рис. 2. Легкие. Неравномерное полнокровие сосудов, отек, мелкоочаговая абсцедирующая пневмония (А, *квадрат*). Фибринозно-гнойный плеврит (В). Септический тромб в легком (С). Острая язва трахеи, покрытая фибринозно-гнойным экссудатом (D). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 2. Lungs. Uneven vascular congestion, edema, and small focal abscessing pneumonia (A, *inset*). Fibrinopurulent pleuritis (B). Septic thrombus (C). Acute tracheal ulcer covered with fibrinopurulent exudate (D). H&E stain, $\times 400$

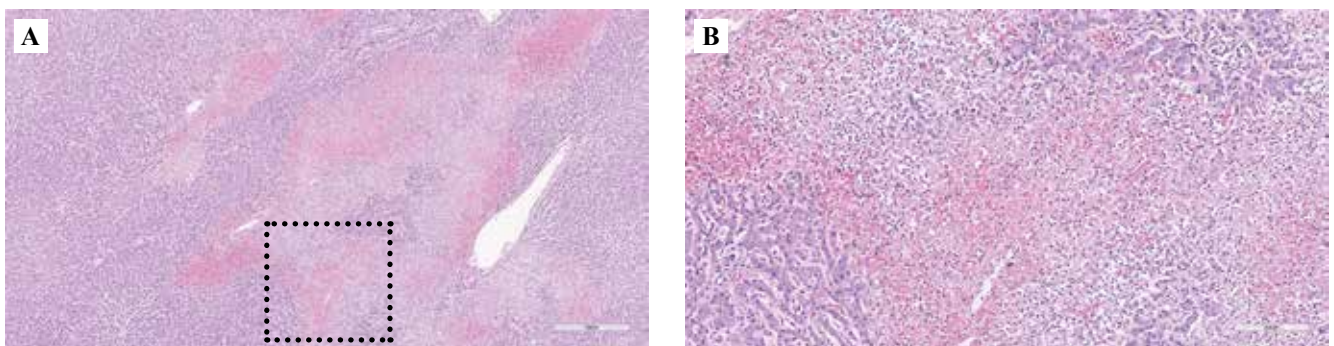


Рис. 3. Печень. Центролобулярные некрозы с кровоизлияниями (В, деталь микрофотографии А). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 3. Liver. Centrilobular necrosis with hemorrhages (B, detail from micrograph A). H&E stain, $\times 400$

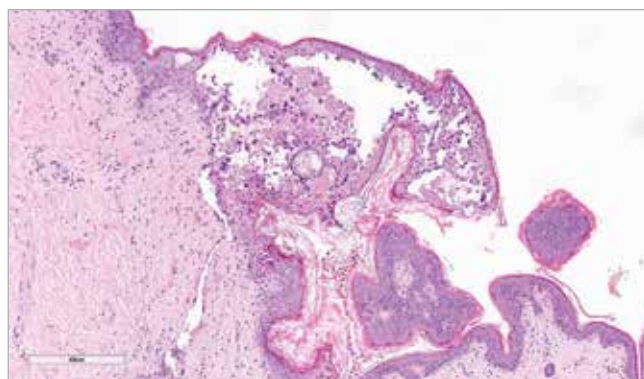


Рис. 4. В коже элементы сыпи представлены экзантемой. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 4. Exanthematous skin lesions. H&E stain, $\times 400$

поражением кожи, слизистых оболочек и паренхиматозных органов. Интерстициальный миокардит. Острый негнойный менингоэнцефалит. Осложнения: сепсис, септицемия (выявлен рост *Pseudomonas aeruginosa*). Абсцедирующая пневмония. Респираторный дистресс-синдром взрослых. Септический шок: шоковые почки, шоковые легкие. Острое центрлобулярное полнокровие печени с очаговыми некрозами. Спонтанный двусторонний пневмоторакс. Двусторонний гидроторакс, асцит. Подкожная эмфизема.

Смерть пациента с СД 1-го типа и генерализованной формой ветряной оспы наступила от присоединения вторичной бактериальной инфекции с развитием сепсиса и полиорганной недостаточности. Отрицательные прижизненные результаты на ДНК ВВЗ в полимеразной цепной реакции содержимого везикул, вероятно, обусловлены нестойкостью вируса ветряной оспы во внешней среде.

Обсуждение

Развитие ветряной оспы с поражением кожи и внутренних органов со смертельным исходом чаще наблюдается у пожилых людей и пациентов с иммунодефицитом. Клиническая манифестация происходит путем реактивации вируса у носителей. Несмотря на хороший прогноз, у пациентов с иммунодефицитом отмечается более тяжелое течение с присоединением вторичной инфекции. В литературе приводится много клинических наблюдений неблагоприятного течения ветряной оспы у взрослых, беременных и пациентов с коморбидными заболеваниями [1, 2, 4]. СД, особенно плохо контролируемый, является фактором риска развития различных инфекционных заболеваний и обуславливает их более тяжелое течение. В исследовании случай–контроль, проведенное в Израиле [6], целью которого было изучение связи между СД и ВВЗ, включена информация о 22 294 пациентах, перенесших опоясывающий герпес, и 88 895 участниках группы контроля. Работа показала, что наличие СД было связано с повышением риска заражения вирусом в 1,53 раза (отношение шансов 1,53; 95% доверительный интервал (ДИ): 1,44–1,62). Фактором, еще более повышающим риск инфекции, являлись неудовлетворительные показатели гликемического контроля (уровень гликированного гемоглобина >8% в сравнении с уровнем гликированного гемоглобина <5%). У пациентов моложе 45 лет, страдающих СД более трех лет и находящихся на регулярной инсулинотерапии, отмечена тенденция к росту риска инфекций [6]. В другом исследовании, проведенном в Испании, показано, что скорректированный относительный риск возникновения опоясывающего герпеса у пациентов с СД по сравнению с общей популяцией соответствовал 2,1 (95% ДИ 1,9–2,4) и увеличивался до 3,7 (95% ДИ 2,0–6,8) в возрастной группе 30–44 лет. Из общего числа случаев опоясывающего лишая в популяции 7,2% возникли у пациентов с СД [7]. В свою очередь, вирусные заболевания

могут провоцировать нарушение углеводного обмена и ухудшать показатели гликемического контроля при уже существующем СД.

В нашем случае у пациента отсутствовали какие-либо клинические данные о проведенной ранее вакцинации и перенесенной в детском возрасте ветрянке. Больше того, СД 1-го типа с неудовлетворительным гликемическим контролем, наблюдавшийся у пациента в течение длительного времени, на фоне чего отмечались неоднократные кетоацидотические состояния, мог явиться фоном, повышающим вероятность развития именно первичной инфекции ВВЗ. Диабетический кетоацидоз (ДКА) возникает в условиях относительной или абсолютной недостаточности инсулина, что приводит к гипергликемии и неконтролируемому липолизу, вызывая избыточное образование кетоновых тел и ацидоз, и существенно ухудшает прогноз заболевания. Показатели смертности у пациентов в состоянии ДКА значительно различаются в зависимости от условий оказания медицинской помощи. В развитых странах уровень смертности от ДКА составляет меньше 1%, тогда как в развивающихся странах он намного выше и достигает 3–13%. Анализ, проведенный в Индии, показал, что до 30% случаев госпитализации пациентов с ДКА заканчивается смертью в стационаре [4]. Присоединение интеркуррентных заболеваний и развитие ДКА – факторы, ухудшающие прогноз заболевания, а у молодых пациентов с СД 1-го типа являющиеся наиболее частыми причинами летального исхода [8–10]. Причиной, предрасполагающей к возникновению инфекции на фоне СД, может быть нарушение клеточного иммунитета, что подтверждается результатами изучения иммунных реакций, специфичных для вируса ветряной оспы, у пациентов с СД в сравнении со здоровыми добровольцами, в котором было обнаружено, что при СД показатели, отражающие состояние клеточного иммунитета к ВВЗ, были значительно ниже, чем у здоровых людей, что может быть причиной реактивации возбудителя [1]. Входными воротами для вторичной инфекции являются легкие с развитием абсцессов или кожа при эскориации папулезных очагов. При этом распространение вторичной инфекции принимает форму септицемии с поражением паренхиматозных органов и развитием полиорганной недостаточности.

В головном мозге на фоне расстройства кровообращения выявляются признаки менингоэнцефалита. В печени – полнокровие сосудов, очаговые центрлобулярные кровоизлияния и очаговые некрозы. В почках – некротический нефроз и абсцессы. В лимфатических узлах – признаки лимфоидной гиперплазии. Во внутренних органах могут наблюдаться множественные очаги гнойно-некротического воспаления. Клинически этот процесс может сопровождаться появлением выраженного болевого синдрома, преимущественно в области живота. В ряде случаев при висцеральной диссе-

минированной инфекции ВВЗ боль в животе возникает раньше, чем кожные проявления. Другим клиническим проявлением может быть синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания, сопровождающийся лихорадкой, болью в животе и повышением уровня трансаминаз [11, 12]. Таким образом, наличие данной симптоматики у ослабленных пациентов с СД может служить поводом рассматривать диссеминированную форму ветряной оспы в плане дифференциальной диагностики.

Заключение

Приведенное клиническое наблюдение показывает нетипичное тяжелое клиническое течение «детского» заболевания у взрослого пациента на фоне сахарного диабета 1-го типа. Описанные изменения паренхиматозных органов в условиях генерализованной ветряной оспы с присоединением вторичной инфекции и развитием смертельного осложнения в виде септицемии позволяет предположить, что заражение произошло при вторичном иммунодефиците. Несмотря на общую осведомленность пациентов о необходимости систематического контроля уровня гликемии и профилактики инфекционных осложнений, сахарный диабет 1-го/2-го типа существенно повышает риск реактивации ВВЗ, что требует проведения своевременной вакцинации.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.В. Егоров, Ю.А. Ковалева, Г.Р. Сетдикова, И.В. Комердус.

Сбор и обработка материала – Ю.А. Ковалева, И.В. Комердус.

Написание текста – М.В. Егоров, Ю.А. Ковалева, Г.Р. Сетдикова, И.В. Комердус.

Редактирование – Л.Ф. Скляр.

Author contributions

Conceived the study and designed – M.V. Egorov, Yu.A. Kovaleva, G.R. Setdikova, I.V. Komerdus.

Collected the data and performed the analyses – Yu.A. Kovaleva, I.V. Komerdus.

Wrote the paper – M.V. Egorov, Yu.A. Kovaleva, G.R. Setdikova, I.V. Komerdus.

Edited the manuscript – L.F. Sklyar.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Информация об авторах

Михаил Вячеславович Егоров – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения (с прозекторской) МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Юлия Александровна Ковалева – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения эндокринологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Галия Равиловна Сетдикова – доктор медицинских наук, руководитель отделения морфологической диагностики отдела онкологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Литература/References

1. Huang CT, Lee CY, Sung HY, Liu SJ, Liang PC, Tsai MC. Association between diabetes mellitus and the risk of herpes zoster: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(2):586–97. DOI: 10.1210/clinem/dgab675.
2. Patil A, Goldust M, Wollina U. Herpes zoster: a review of clinical manifestations and management. *Viruses.* 2022;14(2):192. DOI: 10.3390/v14020192.
3. Singal A, Schwartz RA, Bhate C. Herpes zoster infection in pregnancy: features and consequences. *Arch Dermatol Res.* 2024;316(4):107. DOI: 10.1007/s00403-024-02842-3.
4. Agarwal A, Yadav A, Gutch M, Consul S, Kumar S, Prakash V et al. Prognostic factors in patients hospitalized with diabetic ketoacidosis. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2016;31(3):424–32. DOI: 10.3803/EnM.2016.31.3.424.
5. Zerboni L, Sen N, Oliver SL, Arvin AM. Molecular mechanisms of varicella zoster virus pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2014;12(3):197–210. DOI: 10.1038/nrmicro3215.
6. Heymann AD, Chodick G, Karpati T, Kamer L, Kremer E, Green MS et al. Diabetes as a risk factor for herpes zoster infection: results of a population-based study in Israel. *Infection.* 2008;36(3):226–30. DOI: 10.1007/s15010-007-6347-x.
7. Aldaz P, Diaz JA, Loayssa JR, Dronda MJ, Oscáriz M, Castilla J. Incidencia de herpes zóster en pacientes diabéticos [Herpes zoster incidence in diabetic patients]. *An Sist Sanit Navar.* 2013;36(1):57–62 (In Spanish). DOI: 10.4321/s1137-66272013000100006.
8. Dahlquist G, Källén B. Mortality in childhood-onset type 1 diabetes: a population-based study. *Diabetes Care.* 2005;28(10):2384–7. DOI: 10.2337/diacare.28.10.2384.
9. Patterson CC, Dahlquist G, Harjutsalo V, Joner G, Feltbøwer RG, Svensson J et al. Early mortality in EURODIAB population-based cohorts of type 1 diabetes diagnosed in childhood since 1989. *Diabetologia.* 2007;50(12):2439–42. DOI: 10.1007/s00125-007-0824-8.
10. Realsen J, Goettle H, Chase HP. Morbidity and mortality of diabetic ketoacidosis with and without insulin pump care. *Diabetes Technol Ther.* 2012;14(12):1149–54. DOI: 10.1089/dia.2012.0161.
11. Miller GG, Dummer JS. Herpes simplex and varicella zoster viruses: forgotten but not gone. *Am J Transplant.* 2007;7(4):741–7. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01718.x.
12. Campsen J, Hendrickson R, Bak T, Wachs M, Kam I, Nash R et al. Herpes simplex in a liver transplant recipient. *Liver Transpl.* 2006;12(7):1171–3. DOI: 10.1002/lt.20823.

Лидия Федоровна Скляр – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней факультета усовершенствования врачей МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Ирина Владимировна Комердус – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эндокринологии факультета усовершенствования врачей, заведующая отделением эндокринологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Author information

Mikhail V. Egorov – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Department of Pathology (with a dissecting room), Moscow Regional Research and Clinical Institute; Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0009-0006-6305-6871>

Yulia A. Kovaleva – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Endocrinology, Moscow Regional Research and Clinical Institute.

<https://orcid.org/0000-0001-7327-2486>

Galiya R. Setdikova – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Morphological Diagnostic, Oncology Department, Moscow Regional Research and Clinical Institute.

<https://orcid.org/0000-0002-5262-4953>

Lidiya F. Sklyar – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Faculty of Postgraduate Medical Education, Moscow Regional Research and Clinical Institute.

<https://orcid.org/0000-0001-8466-2826>

Irina V. Komerdus – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Endocrinology, Faculty of Postgraduate Medical Education, Head of the Endocrinology Department, Moscow Regional Research and Clinical Institute.

<https://orcid.org/0000-0001-7469-0372>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Трудности диагностики AL- λ -амилоидоза тонкой кишки, симулирующего кишечную непроходимость

*А.А. Тебенкова¹, З.В. Гюева¹, Д.Е. Селезнев², А.И. Михалев^{3,4},
А.Е. Бирюков^{1,4}, Е.Д. Долгов¹, А.К. Конюкова^{1,4}, Л.М. Михалева^{1,4}*

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

² АО «Клиника К+31», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ГБУЗ Городская клиническая больница № 31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Резюме. Представлен редкий клинический случай дебюта AL- λ -амилоидоза с поражением тонкой кишки у пациента 59 лет. В течение двух лет болезнь проявлялась исключительно гастроинтестинальными симптомами (диспепсия, абдоминальный дискомфорт, потеря 20 кг веса). Диагностический поиск, включавший эндоскопические методы, выявил лишь неспецифические изменения. Ключевое значение для верификации диагноза имела энтероскопия с прицельной биопсией из язвенных дефектов тонкой кишки. Патоморфологическое исследование (окрашивание конго красным с поляризационной микроскопией и иммуногистохимическое типирование) подтвердило первичный AL- λ -амилоидоз. Наблюдение демонстрирует необходимость включения амилоидоза в дифференциальный ряд при необъяснимых желудочно-кишечных расстройствах, сопровождающихся похудением и явлениями псевдообструкции. Междисциплинарный подход и современные методы морфологической диагностики являются решающими для своевременного распознавания болезни.

Ключевые слова: амилоидоз, AL- λ -амилоидоз, тонкая кишка, энтероскопия, биопсия, иммуногистохимия

Для корреспонденции: Анна Андреевна Тебенкова. E-mail: tebenkova.ann@yandex.ru

Для цитирования: Тебенкова А.А., Гюева З.В., Селезнев Д.Е., Михалев А.И., Бирюков А.Е., Долгов Е.Д., Конюкова А.К., Михалева Л.М. Трудности диагностики AL- λ -амилоидоза тонкой кишки, симулирующего кишечную непроходимость. Клини. эксп. морфология. 2026;15(3):65–72. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.65-72.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» № 1025031800111-3-3.1.9 (№ FURG-2026-0030).

Статья поступила 25.03.2026. Получена после рецензирования 06.04.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Diagnostic challenges of AL- λ amyloidosis of the small intestine simulating intestinal obstruction

*A.A. Tebenkova¹, Z.V. Gioeva¹, D.E. Seleznev², A.I. Mikhalev^{3,4},
A.E. Birukov^{1,4}, E.D. Dolgov¹, A.K. Konyukova^{1,4}, L.M. Mikhaleva^{1,4}*

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russia

² JSC “K+31” Clinic, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

⁴ Savelyeva City Clinical Hospital No. 31, Moscow, Russia

Abstract. This paper presents a rare clinical case of AL- λ amyloidosis involving the small intestine in a 59-year-old patient. For two years, the patient experienced only gastrointestinal symptoms, which included dyspepsia, abdominal discomfort, and weight loss of 20 kg. Endoscopy revealed only nonspecific changes. Enteroscopy with targeted biopsy of ulcerative defects in the small intestine was crucial for diagnosis verification. Pathomorphological examination (Congo red staining with polarization microscopy and immunohistochemical typing) confirmed primary AL- λ amyloidosis. This case demonstrates the necessity

of including amyloidosis in the differential diagnosis for unexplained gastrointestinal disorders accompanied by weight loss and symptoms simulating intestinal pseudo-obstruction. A multidisciplinary approach and modern methods of morphological diagnosis are crucial for timely disease detection.

Keywords: amyloidosis, AL- λ amyloidosis, small intestine, enteroscopy, biopsy, immunohistochemistry

Corresponding author: Anna A. Tebenkova. E-mail: tebenkova.ann@yandex.ru

For citation: Tebenkova A.A., Gioeva Z.V., Seleznev D.E., Mikhalev A.I., Birukov A.E., Dolgov E.D., Konyukova A.K., Mikhaleva L.M. Diagnostic difficulties of AL- λ amyloidosis of the small intestine simulating intestinal obstruction. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)65–72 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.65-72.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Centre of Surgery" No. 1025031800111-3-3.1.9 (No. FURG-2026-0030).

Received 25.03.2026. **Received in revised form** 06.04.2026. **Accepted** 14.05.2026.

Введение

Амилоидоз – заболевание, в основе которого лежит внеклеточное отложение нерастворимого фибриллярного белка (амилоида) [1]. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) часто вовлекается в патологический процесс, однако симптомы крайне разнообразны и неспецифичны: от полного отсутствия жалоб до выраженной мальабсорбции, диареи, диспепсии, кишечной непроходимости или кровотечений, именно поэтому от момента первых проявлений до постановки правильного диагноза нередко проходит много месяцев [2]. Кроме того, манифестация AL-амилоидоза исключительно гастроинтестинальными симптомами встречается крайне редко. В подавляющем большинстве наблюдений клинические проявления поражения ЖКТ являются на фоне уже установленного амилоидоза с характерными внекишечными проявлениями – кардиомиопатией, нефропатией или периферической нейропатией, которые служат ключевыми ориентирами для клиницистов [3]. При отсутствии классических внекишечных признаков, служащих ключевыми диагностическими ориентирами, амилоидоз у пациентов с гастроинтестинальными жалобами зачастую остается за пределами дифференциальной диагностики на протяжении длительного времени.

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует сложность верификации AL- λ -амилоидоза с поражением тонкой кишки у пациента с длительным анамнезом гастроинтестинальных жалоб, неоднократно обследовавшегося по поводу синдрома кишечной непроходимости и необъяснимой потери массы тела.

Клиническое наблюдение

Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНЦХ имени академика Б.В. Петровского (протокол № 8 от 29.09.2023). Получено добровольное информированное согласие на публикацию этого наблюдения в открытой печати.

Пациент Б., мужского пола, в течение двух лет отмечал прогрессирующие жалобы со стороны желудочно-кишечного тракта, включающие диспептические явления в виде кислой отрыжки, абдоминальный

дискомфорт после приема пищи и болевой синдром. Указанная клиническая картина сопровождалась значительной ненамеренной потерей массы тела, составившей 20 кг в течение года. Стоит отметить, что за два месяца до госпитализации пациенту было выполнено эндоскопическое удаление тубулярных аденом толстой кишки низкой степени злокачественности. При сборе семейного анамнеза выявлена отягощенная наследственность по линии отца: язвенная болезнь желудка и диагностированная в 59 лет карцинома прямой кишки.

В связи с усугублением диспептических жалоб, прогрессирующей потерей массы тела и развитием картины, подозрительной на нарушение пассажа по кишечнику, пациент был госпитализирован в хирургический стационар для верификации диагноза и определения дальнейшей лечебной тактики. Предварительный диагноз при поступлении «синдром кишечной непроходимости неуточненной этиологии на фоне выраженного диспептического синдрома и синдрома мальнотриции».

Объективный статус при поступлении: общее состояние средней тяжести, пациент в сознании, активен. Гемодинамика стабильная (артериальное давление 120/70 мм рт. ст., частота сердечных сокращений 78 в минуту), признаки дыхательной недостаточности отсутствуют (частота дыхательных движений 18 в минуту, дыхание везикулярное). При осмотре живота отмечена локальная болезненность в правом подреберье при глубокой пальпации; перитонеальные симптомы отрицательные, перистальтика сохранена. Кожные покровы суховаты, отеков нет. Данные осмотра других систем органов без значимых отклонений.

Для исключения механической кишечной непроходимости пациенту проведена компьютерная томография (КТ) органов брюшной полости и забрюшинного пространства. По данным КТ выявлены признаки тонкокишечной непроходимости, предположительно динамического характера, а также циркулярное утолщение стенок выходного отдела желудка без признаков вовлечения парагастральной клетчатки и регионарных лимфатических узлов.

При рентгенологическом исследовании с контрастированием определялось замедление эвакуации из желудка и пассажа водорастворимого контраста по тонкой и толстой кишке.

Для исключения патологии желудка и двенадцатиперстной кишки выполнена эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с последующей морфологической верификацией хронического хеликобактер-ассоциированного атрофического гастрита с участками кишечной метаплазии нижней трети тела и антрального отдела желудка в стадии обострения.

При эндоскопическом ультразвуковом исследовании (ЭУС) установлена деформация препилорического и пилорического отделов желудка, обусловленная рубцовыми изменениями поствоспалительного характера, без критического стенозирования просвета и признаков опухолевого роста. Для декомпрессии и энтерального питания был установлен назоинтестинальный зонд, начата комплексная консервативная терапия, включающая инфузионную коррекцию, нутритивную поддержку и расширенный лабораторный скрининг, в том числе исследование на патогенные возбудители в желудочно-кишечном тракте.

Результаты неинвазивных методов исследования не позволили верифицировать органическую патологию, способную объяснить тяжесть клинической картины, поэтому было принято решение о выполнении диагностической лапароскопии. В ходе вмешательства макроскопические признаки объемных образований, спаечный процесс или характерные для болезни Крона воспалительные изменения не выявлены. Тем не менее визуализированы структурные изменения стенки тонкой кишки: дистальные отделы подвздошной кишки были спавшимися с резко ослабленной перистальтикой; в стенке тощей кишки определялись очаги уплотнения желтоватого цвета, ригидные при инструментальной пальпации, в зоне которых перистальтическая активность полностью отсутствовала. Изменения в начальных отделах тонкой кишки носили распространенный характер, захватывая большую часть окружности кишечной стенки.

Для уточнения природы изменений тонкой кишки проведена пероральная баллонно-ассистированная энтероскопия, при которой визуализировалась слизистая оболочка тощей кишки, характеризующаяся на всем протяжении очаговой гиперемией, отечностью и повышенной контактной ранимостью. Отмечено также укорочение кишечных ворсин. На фоне измененной слизистой обнаружены изъязвления неправильной формы диаметром 8–12 мм с отечными краями и фибринозным налетом в области дна (рис. 1). Из трех наиболее крупных язвенных дефектов были взяты прицельные биоптаты для последующего патоморфологического и иммуногистохимического исследования.

При патоморфологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки тонкой кишки в собственной пластинке слизистой и подслизистом слое интерстици-

ально и в стенках кровеносных сосудов обнаружены гомогенные эозинофильные депозиты, которые при окрашивании конго красным и дальнейшем исследовании в поляризованном свете демонстрировали характерное двойное лучепреломление (рис. 2).

Для определения типа амилоида выполнено иммуногистохимическое исследование с широкой панелью антител к различным типам амилоида. Выявлена положительная реакция депозитов с антителами к Р-компоненту амилоида (Anti-Serum Amyloid P/SAP antibody, Abcam, Великобритания) и к легким λ -цепям иммуноглобулинов (clone SHL53, Leica Biosystems, Novocastra™, Великобритания). При этом реакция с антителами к амилоиду A (Clone C3, Cloud-Clone Corp., США), легким κ -цепям (clone CH15, Leica Biosystems, Novocastra™, Великобритания), ALECT2 и транстирину (PreAlbumin, Abcam, Великобритания) была отрицательной (рис. 3).

На основании совокупности данных патоморфологического, гистохимического и иммуногистохимического исследований поставлен диагноз «AL- λ -амилоидоз с поражением тонкой кишки». Полученные результаты указывают на моноклональную природу депозитов, связанную с продукцией аномальных легких λ -цепей иммуноглобулинов, что характерно для первичного AL-амилоидоза.

К сожалению, определение свободных легких цепей в сыворотке крови, электрофорез с иммунофиксацией, а также анализ мочи на белок Бенс-Джонса выполнены не были по причине отсутствия на момент обследования клинической настороженности в отношении амилоидоза. Для дальнейшего наблюдения и решения вопроса о специфической терапии пациент был направлен к гематологу.

Обсуждение

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует сложности диагностики первичного системного амилоидоза с манифестацией в виде тяжелой гастроинтестинальной патологии. Амилоидоз тонкой кишки редко диагностируется прижизненно ввиду неспецифичности клинической картины. Согласно данным Консорциума по изучению амилоидоза (Amyloidosis Research Consortium), в когорте из 533 пациентов среднее время от появления первых симптомов до установления диагноза превышало 12 месяцев, при этом в ряде случаев для верификации диагноза требовалось участие более пяти специалистов [4].

Клиническая картина у пациента Б. характеризовалась длительными (в течение двух лет) диспептическими явлениями и абдоминальным дискомфортом, что типично для этой патологии. По данным биопсийных исследований, вероятность поражения органов пищеварения при амилоидозе достигает 36,5% [5, 6]. Значительная потеря массы тела, зафиксированная у пациента, коррелирует с синдромом мальабсорбции

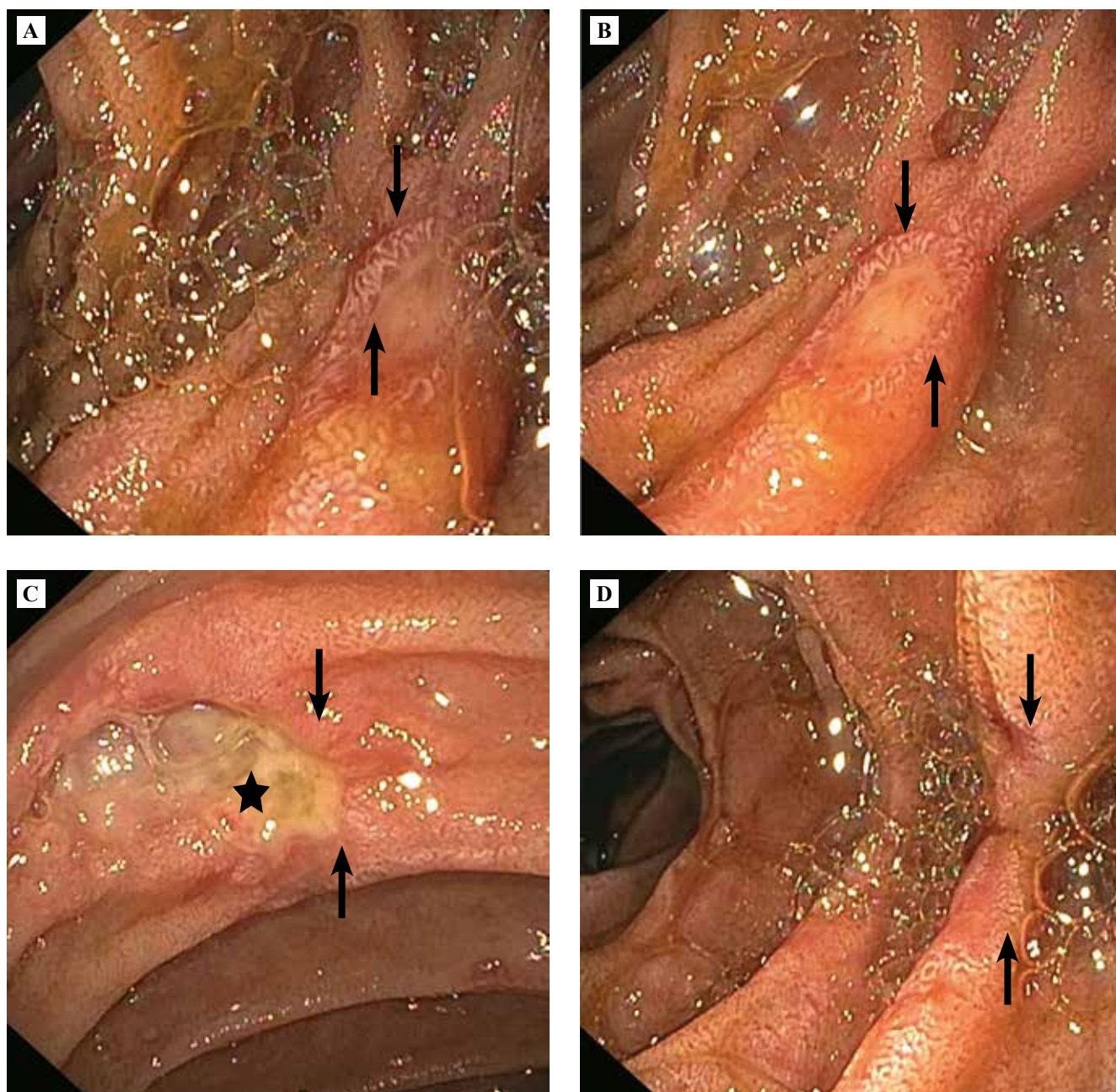


Рис. 1. А–D – баллонно-ассистированная энтероскопия: изъязвления неправильной формы с отечными краями (стрелки), дно которых покрыто фибрином (звездочка)

Fig. 1. Balloon-assisted enteroscopy: irregularly shaped ulcerations (arrows) with edematous margins, the bottoms of which are covered with fibrin (asterisk)

и висцеральной вегетативной нейропатией, часто сопутствующими амилоидозу [7].

Обращает на себя внимание длительный диагностический поиск, в ходе которого первоначально рассматривались чаще встречающиеся заболевания или состояния: хронический гастрит, болезнь Крона, последствия проведенной полипэктомии и синдром кишечной непроходимости. Отягощенный семейный анамнез (карцинома прямой кишки у отца) мог направить диагностическую гипотезу в сторону онко-

логической патологии, однако результаты КТ и ЭУС исключили опухолевый рост. Сложность верификации диагноза была обусловлена тем, что стандартное эндоскопическое исследование (ЭГДС) и лучевые методы (КТ с контрастированием) не обладают достаточной диагностической информативностью для выявления амилоидоза. Утолщение стенки кишки и замедление пассажа контраста, выявленные при КТ и рентгеноскопии, являются неспецифичными признаками и могут наблюдаться при широком круге патологий: при забо-

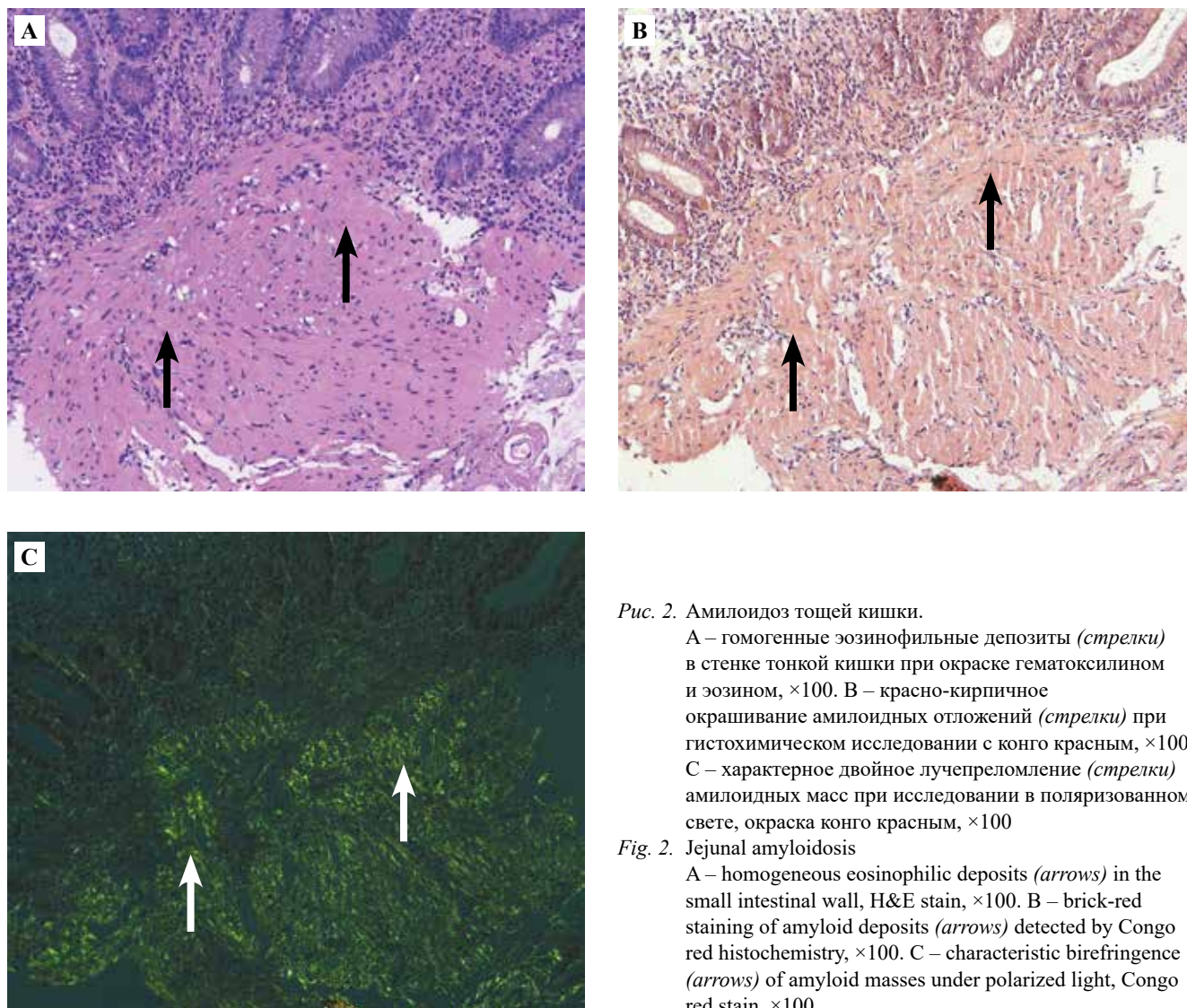


Рис. 2. Амилоидоз тощей кишки.

А – гомогенные эозинофильные депозиты (стрелки) в стенке тонкой кишки при окраске гематоксилином и эозином, $\times 100$. В – красно-кирпичное окрашивание амилоидных отложений (стрелки) при гистохимическом исследовании с конго красным, $\times 100$. С – характерное двойное лучепреломление (стрелки) амилоидных масс при исследовании в поляризованном свете, окраска конго красным, $\times 100$

Fig. 2. Jejunal amyloidosis

А – homogeneous eosinophilic deposits (arrows) in the small intestinal wall, H&E stain, $\times 100$. В – brick-red staining of amyloid deposits (arrows) detected by Congo red histochemistry, $\times 100$. С – characteristic birefringence (arrows) of amyloid masses under polarized light, Congo red stain, $\times 100$

леваниях тонкой и толстой кишки как воспалительно-го, опухолевого, так и сосудистого генеза [8]. Именно резистентность к проводимой терапии и отсутствие макроскопических признаков хирургической патологии в ходе лапароскопии послужили основанием для углубленного эндоскопического поиска и патоморфологического исследования.

Ключевым условием своевременной диагностики амилоидоза является корректно выполненное эндоскопическое исследование [9]. Для поражения желудочно-кишечного тракта при данной патологии характерен выраженный полиморфизм эндоскопической картины: спектр изменений простирается от минимальных проявлений (отек, гиперемия) до тяжелых макроскопических альтераций, включая эрозивно-язвенные поражения, псевдополиповидные образования и геморрагии [10]. В последние годы предприняты попытки систематизации эндоскопических находок. Так, J.H. Song et al. на основе многоцентрового анализа предложили классификацию, выделяющую четыре эндоскопических типа

поражения. Авторами установлена корреляция между типом амилоида и эндоскопическим паттерном: для AL-амилоидоза более характерен геморрагический тип, для AA-амилоидоза – язвенный, а «зернистый» тип ассоциирован с клиническими проявлениями моторной дисфункции ЖКТ [11].

В представленном клиническом наблюдении решающую роль в верификации заболевания сыграла баллонно-ассистированная энтероскопия с прицельной биопсией. Эндоскопическая картина (отечность, гиперемия, укорочение ворсин и множественные язвенные дефекты) соответствовала описаниям амилоидоза тонкой кишки, представленным в научной литературе [10, 11]. Принципиальное значение для морфологической верификации амилоидоза имеет глубина биопсии, однако потенциальный риск геморрагических осложнений нередко сдерживает эндоскопистов от проведения глубокого забора материала. В исследовании W. Uraiwan et al. продемонстрировано отсутствие статистически значимого повышения риска геморрагических осложнений

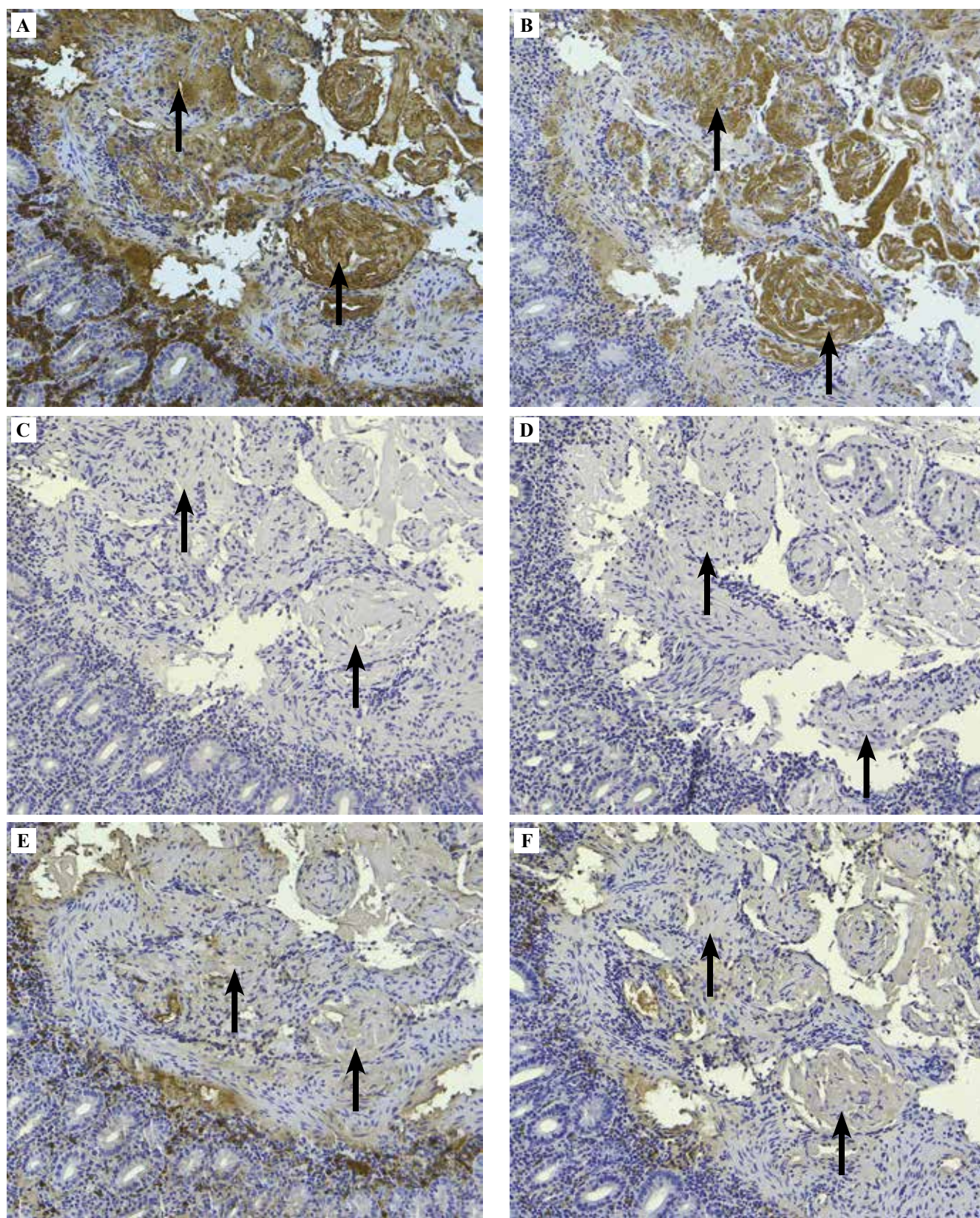


Рис. 3. Позитивная иммуногистохимическая реакция (стрелки) с антителом к Р-компоненту (А) и антителу к AL-λ (В) амилоиду, $\times 100$. Негативная иммуногистохимическая реакция с антителами к AA (С) и ALECT2 (D) амилоиду, $\times 100$. Слабая фоновая иммуногистохимическая реакция (стрелки) с антителами к AL-κ (Е) и ATTR (F), $\times 100$

Fig. 3. Positive immunohistochemical reaction (arrows) with antibodies to P-component (A) and AL-λ amyloid (B), $\times 100$. Negative immunohistochemical reaction with antibodies to AA (C) and ALECT2 (D) amyloid, $\times 100$. Weak background immunohistochemical reaction (arrows) with antibodies to AL-κ (E) and ATTR (F) amyloid, $\times 100$

у пациентов с амилоидозом: частота постбиопсийных кровотечений составила 5,6% в основной группе и 4,2% в группе сравнения. Многофакторный анализ, включавший коррекцию по широкому спектру клинических и лабораторных параметров, не выявил независимой ассоциации между наличием амилоидоза и вероятностью развития кровотечения [12].

Заключение

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует редкий вариант манифестации первичного системного AL-λ-амилоидоза с поражением тонкой кишки, что подчеркивает необходимость включения данного заболевания в дифференциально-диагностический поиск у пациентов с необъяснимыми гастроинтестинальными симптомами. Длительный (двухлетний) диагностический путь, характерный для большинства случаев амилоидоза, был обусловлен неспецифичностью клинической картины, имитировавшей синдром кишечной непроходимости, и отсутствием патогномичных изменений при стандартных лучевых и эндоскопических методах исследования.

Наблюдение имеет высокую практическую значимость, демонстрируя, что у пациентов с прогрессирующей потерей массы тела, синдромом мальабсорбции и явлениями кишечной непроходимости неясного генеза амилоидоз должен рассматриваться как потенциальная причина развития данной клинической картины. Междисциплинарный подход с участием гастроэнтеролога, хирурга, онколога и патологоанатома является обязательным условием своевременной диагностики и улучшения прогноза у данной категории пациентов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – З.В. Гюева, Л.М. Михалева.
Сбор и обработка материала – А.А. Тебенкова, Д.Е. Селезнев, А.И. Михалев, А.Е. Бирюков, Е.Д. Долгов, А.К. Конюкова.
Написание текста – А.А. Тебенкова.
Редактирование – З.В. Гюева, Л.М. Михалева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Z.V. Gioeva, L.M. Mikhaleva.
Collected the data and performed the analysis – A.A. Tebenkova, D.E. Seleznev, A.I. Mikhalev, A.E. Birukov, E.D. Dolgov, A.K. Konyukova.
Wrote the paper – A.A. Tebenkova.
Edited the manuscript – Z.V. Gioeva, L.M. Mikhaleva.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Гюева З.В., Вандышева Р.А., Епхив А.А., Габеева А.А., Дзадзиева Н.Г., Ерофеева Л.М. и др. Клинико-морфо-

логические особенности локального амилоидоза гортани. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(4):38–47. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.38-47.

Gioeva ZV, Vandysheva RA, Ephiev AA, Gabueva AA, Dzadzиеva NG, Erofeeva LM et al. Clinical and morphological features of localized laryngeal amyloidosis. Clinical and experimental morphology. 2022;11(4):38–47 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.38-47.

2. Hagen CE, Dasari S, Theis JD, Rech KL, Dao LN, Howard MT et al. Gastrointestinal amyloidosis: an often unexpected finding with systemic implications. Hum Pathol. 2023;139:27–36. DOI: 10.1016/j.humpath.2023.06.007.
3. Muchtar E, Dispenzieri A, Magen H, Grogan M, Mauermann M, McPhail ED et al. Systemic amyloidosis from A (AA) to T (ATTR): a review. J Intern Med. 2021;289(3):268–92. DOI: 10.1111/joim.13169
4. Lousada I, Comenzo RL, Landau H, Guthrie S, Merlini G. Light chain amyloidosis: patient experience survey from the Amyloidosis Research Consortium. Adv Ther. 2015;32(10):920–8. DOI: 10.1007/s12325-015-0250-0.
5. Nakov R, Sarafov S, Nakov V, Gospodinova M, Todorov T, Kirov A et al. Gastrointestinal manifestations in hereditary transthyretin amyloidosis associated with Glu89Gln mutation. J Gastrointest Liver Dis. 2019;28(4):421–6. DOI: 10.15403/jgld-362.
6. Krauß LU, Schmid S, Mester P, Utpatel K, Kunst C, Müller M et al. Clinical, endoscopic, and histopathologic observations in gastrointestinal amyloidosis. J Gastrointest Liver Dis. 2023;32(4):497–506. DOI: 10.15403/jgld-5107.
7. den Braber-Ymker M, Heijker S, Lammens M, Croockewit S, Nagtegaal ID. Intestinal involvement in amyloidosis is a sequential process. Neurogastroenterol Motil. 2018;30(12):e13469. DOI: 10.1111/nmo.13469.
8. Tang MJ, Tay TY, Gibbs S, Niewiadomski O. Amyloidosis for the gastroenterologist: a comprehensive systematic review of diagnosis and management of gastrointestinal manifestations. J Gastroenterol Hepatol. 2025;40(12):2842–56. DOI: 10.1111/jgh.70083.
9. Tebenkova A, Gioeva Z, Shakhpazyan N, Pechnikova V, Midiber K, Kalmykov V et al. Comparative histopathological characteristics of duodenal involvement in different types of amyloidosis. Biomedicines. 2025;13(9):2196. DOI: 10.3390/biomedicines13092196.
10. Niu Z, Lang Y, Shen Y, Zhang H, Xue Y, Ding S. Endoscopic and pathological characteristics of gastrointestinal amyloidosis: a retrospective analysis. BMC Gastroenterol. 2025;25(1):81. DOI: 10.1186/s12876-025-03670-z.
11. Song JH, Jung HM, Kim JW, Kim ER, Lee GY, Yoon SE et al. Endoscopic features of gastrointestinal amyloidosis: a proposed endoscopic classification. Gut Liver. 2025;19(4):592–601. DOI: 10.5009/gnl240383.
12. Uraivan W, Saelue P. Bleeding risk and prediction model to predict bleeding risk of tissue biopsy for definitive diagnosis in patients with suspected amyloidosis. Ann Med. 2025;57(1):2453088. DOI: 10.1080/07853890.2025.2453088.

Информация об авторах

Анна Андреевна Тебенкова – аспирантка НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Зарина Владиславовна Гиоева – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая центральной патологоанатомической лабораторией НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Денис Евгеньевич Селезнев – кандидат медицинских наук, заведующий эндоскопическим отделением клиники «К+31».

Александр Иванович Михалев – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии № 2 РНИМУ им. Н.И. Пирогова, врач-хирург ГКБ № 31 им. акад. Г.М. Савельевой.

Андрей Евгеньевич Бирюков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, врач-патологоанатом ГКБ № 31 им. акад. Г.М. Савельевой.

Евгений Денисович Долгов – научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Александра Константиновна Конюкова – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, врач-патологоанатом ГКБ № 31 им. акад. Г.М. Савельевой.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель по патологической анатомии, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, заведующая патологоанатомическим отделением ГКБ № 31 им. акад. Г.М. Савельевой.

Author information

Anna A. Tebenkova – Postgraduate Student, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0009-0009-4588-1538>

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.

<https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Denis E. Seleznev – Cand. Sci. (Med.), Head of the Endoscopy Department, “K+31” Clinic.

<https://orcid.org/0000-0002-3269-089X>

Alexander I. Mikhalev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Hospital Surgery No. 2, Pirogov Russian National Research University; Surgeon, Savelyeva City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0002-9463-8229>

Andrei E. Birukov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Pathologist, Pathology Department, Savelyeva City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0001-9700-3352>

Evgeny D. Dolgov – Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”

<https://orcid.org/0000-0001-6709-5209>

Alexandra K. Konyukova – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Pathologist, Pathology Department, Savelyeva City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0001-5925-5196>

Liudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director in Anatomic Pathology, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Head of the Pathology Department, Savelyeva City Clinical Hospital No. 31.

<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Сравнительный анализ способов депигментации нативного ретинального пигментного эпителия и 3D культуры его клеток

А.А. Чурилов¹, С.А. Борзенко^{1,2}, Л.В. Кактурский³,
Д.С. Островский¹, Т.З. Керимов^{1,2}, М.Х. Хубецова¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Российский университет медицины Минздрава России, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

Резюме. Введение. Разработка методов терапии заболеваний ретинального пигментного эпителия, в том числе трансплантации клеток, требует строгого подхода к морфологическому анализу данных. Основополагающим препятствием для иммуногистохимического исследования и микроскопии является наличие меланина, что актуализирует поиск оптимального метода депигментации, сохраняющего структуру клеток. Самым эффективным методом депигментации является протокол № 4. Цель исследования – провести сравнительный анализ методов депигментации нативных препаратов и 3D сфероидов ретинального пигментного эпителия для выявления наиболее эффективного и щадящего алгоритма.

Материалы и методы. Исследовано влияние различных депигментирующих агентов на образцы ретинального пигментного эпителия. Критериями оценки служили степень удаления меланина, сохранность клеточной морфологии, уровень аутофлуоресценции и сроки проведения методик.

Результаты. На основании комплексной оценки определены оптимальные протоколы химической депигментации для последующей конфокальной, световой и фазово-контрастной микроскопии.

Заключение. Разработаны предпочтительные алгоритмы депигментации, обеспечивающие морфофункциональную сохранность ретинального пигментного эпителия и пригодные для детального микроскопического анализа, что формирует основу для стандартизации исследований в данной области.

Ключевые слова: ретинальный пигментный эпителий, морфологическое исследование ретинального пигментного эпителия, депигментация ретинального пигментного эпителия, возрастная макулярная дегенерация, морфологическое исследование 3D сфероидов

Для корреспонденции: Алексей Александрович Чурилов. E-mail: churilov_aa@mail.ru

Для цитирования: Чурилов А.А., Борзенко С.А., Кактурский Л.В., Островский Д.С., Керимов Т.З., Хубецова М.Х. Сравнительный анализ способов депигментации нативного ретинального пигментного эпителия и 3D культуры его клеток. Клини. эксп. морфология. 2026;15(3):73–84. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.73-84.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 10.02.2026. Получена после рецензирования 20.02.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Comparative analysis of depigmentation methods for retinal pigment epithelium and 3D cell spheroids

A.A. Churilov¹, S.A. Borzenok^{1,2}, L.V. Kakturskiy³,
D.S. Ostrovskiy¹, T.Z. Kerimov^{1,2}, M.Kh. Khubetsova¹

¹ S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”, Moscow, Russia

² Russian University of Medicine, Moscow, Russia

³ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. The development of treatment strategies for retinal pigment epithelium diseases, including cell transplantation approaches, requires a rigorous analysis of morphological data. A major limitation for immunohistochemical studies and microscopy is the presence of melanin, which necessitates the identification of an optimal depigmentation method capable of preserving cellular structure. The study aimed to conduct a comparative analysis of depigmentation methods for native preparations and 3D spheroids in order to identify the most effective and least damaging protocol.

Materials and methods. The effects of various depigmenting agents on retinal pigment epithelium samples were investigated. The evaluation criteria included the degree of melanin removal, preservation of cellular morphology, autofluorescence levels, and the time required for the procedures.

Results. We determined optimal chemical depigmentation protocols for subsequent confocal, light, and phase-contrast microscopy.

Conclusion. We developed preferred depigmentation algorithms that ensure preservation of the morphofunctional properties of retinal pigment epithelium and are suitable for detailed microscopic analysis, thereby providing a basis for the standardization of research in this field.

Keywords: retinal pigment epithelium, morphological study of retinal pigment epithelium, depigmentation of retinal pigment epithelium, age-related macular degeneration, morphological study of 3D spheroids

Corresponding author: Alexey A. Churilov. E-mail: churilov_aa@mail.ru

For citation: Churilov A.A., Borzenok S.A., Kakturskiy L.V., Ostrovskiy D.S., Kerimov T.Z., Khubetsova M.Kh. Comparative analysis of depigmentation methods for retinal pigment epithelium and 3D cell spheroids. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)73–84 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.73-84.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 10.02.2026. **Received in revised form** 20.02.2026. **Accepted** 14.05.2026.

Введение

Ретинальный пигментный эпителий (РПЭ) обладает высокой оптической плотностью за счет наличия меланосом, содержащих меланин, что может значительно затруднять визуализацию структур и процессов внутри клеток с использованием конфокальной микроскопии, флуоресцентной маркировки и иммуногистохимического анализа [1].

В условиях проведения гистологического исследования РПЭ депигментация направлена на нивелирование экранирующего эффекта меланина, «маскирующего» клеточные и субклеточные структуры, определяющие точность диагностики [2].

Указанная проблема актуальна в рамках многих научно-исследовательских направлений – с нативной тканью РПЭ, 3D сфероидом и 2D культурами клеток, где точное определение морфологических и молекулярных характеристик критически значимо.

Сегодня научно-исследовательская среда определяет несколько протоколов депигментации, которые используются как при пигментосодержащих опухолях, так и при исследовании РПЭ, однако их эффективность и применимость к различным типам тканевых образцов (нативная ткань, 3D сфероиды – сферические скопления клеток, самоорганизующиеся в трехмерной структуре, приближенные к естественной среде, 2D культура – плоский слой клеток, воссозданный в лабораторных условиях) остаются недостаточно изученными. Проведение комплексного сравнения их применимости в глобальной перспективе позволит не только оптимизировать процесс исследования и повысить качество визуализации посредством флуоресцентных и иммуногистохимических методов, но и стандартизировать подход к морфологическому анализу РПЭ в разных экспериментальных системах. Каждый из рассмотренных методов обладает индивидуальным набором преимуществ и недостатков. Так, например, M. Zhang et al. подчеркивают значимость перекиси

водорода и ионного излучения в депигментации посредством окислительного стресса [3].

Цель исследования – оценить эффективность протоколов депигментации [4–10] при подготовке нативной ткани РПЭ и 3D сфероидов культуры клеток РПЭ к последующим исследованиям в рамках оптимизации условий визуализации и сравнения морфологических характеристик клеток.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования на тканях, выделенных из трупных человеческих глаз, проводились в соответствии с официально принятыми процедурами и специальным разрешением в рамках законодательства Российской Федерации. Глазной тканевой банк НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова получает трупные человеческие глаза из отделений судебно-медицинских экспертиз трупов Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы на основании лицензии Федеральной государственной службы по надзору за здравоохранением № 99-01-005317 от 30.04.2008 и № ФС-99-01-008251 от 18.02.2013. Лицензия позволяет использовать ткани, выделенные из трупных человеческих глаз, для целей трансплантации и научных исследований.

В исследовании для выделения РПЭ были использованы донорские глазные яблоки человека в количестве шести штук (от трех взрослых доноров). Клетки РПЭ человека выделялись из кадаверного донорского глазного яблока после выкраивания корнеосклерального диска, склера была удалена после меридиональных разрезов и пересечения вортикозных вен и зрительного нерва. Хориокапиллярная пластинка (ХКП) отделялась от сетчатки, фиксировалась с помощью двух пластиковых колец размером 14 и 15 мм по методике, разработанной С.А. Борзенком и А.А. Чуриловым с соавторами (патент № RU2836977C1, Способ получения образца

фрагмента ретинального пигментного эпителия сетчатки). Далее нативную ткань, фиксированную кольцами, помещали в фиксирующий 10% раствор формалина на час при комнатной температуре, затем проводили депигментацию.

Для создания 3D сфероидов ХКП помещали в чашку Петри, заливали 2 мл раствором коллагеназы I типа (Thermo Scientific, Германия) и инкубировали 10 минут при температуре 37°C, 5% CO₂. После нейтрализации фетальной бычьей сывороткой (fetal bovine serum, FBS) («ПанЭко», Россия) клетки РПЭ были механически отделены от мембраны Бруха струйным промыванием. Далее суспензия клеток помещалась в 15 мл пробирку и центрифугировалась (1800 оборотов) 5 минут. Затем жидкость из пробирок была убрана до клеток, добавлены 3 мл среды следующего состава: DMEM/F12 (Sigma-Aldrich, США) (1:1), 1% Gibco GlutaMAX (Thermo Fisher Scientific, Германия), 1% антибиотиков («ПанЭко», Россия) и 10% фетальной бычьей сыворотки FBS («ПанЭко», Россия). Далее были проведены ресуспендирование, перенос в 25 см³ флакон для культивирования и установка в инкубатор (37°C, 5% CO₂) на 7 суток.

По достижении 80% конфлюэнтности среду удаляли и добавляли в каждый флакон 3 мл раствора Версена («ПанЭко», Россия) на 1 минуту, затем 3 мл 0,25% раствора трипсин-ЭДТА («ПанЭко», Россия) и устанавли-

вали в инкубатор (37°C, 5% CO₂) на 5 минут. Далее добавляли 1 мл питательной среды, смесь перемешивали и собирали в пробирку 15 мл и вносили еще 2 мл среды, после чего проводили центрифугирование (1800 оборотов, 5 минут) (SL-40 R, Thermo Scientific, Германия).

Далее надосадочную жидкость удаляли, добавляли 1 мл среды, смесь перемешивали с последующим забором 10 мкл полученной жидкости и подсчетом клеток в автоматическом счетчике клеток LUNA-II (Logos Biosystems, Южная Корея). Клеточная суспензия в концентрации 81 000 кл/190 мкл вносилась в неадгезивные 81-луночные планшеты 3D Petri Dishes (MicroTissues/Sigma-Aldrich, США). Полученные сфероиды трехкратно отмывали в фосфатно-солевом буферном растворе (phosphate-buffered saline, PBS), после чего проводили фиксацию в 10% растворе формалина в течение 10 минут, затем трижды отмывали в PBS. После получения сфероидов проводилась депигментация.

В рамках данного исследования были определены следующие протоколы депигментации (табл. 1–7).

Эффективность депигментации нативного пигментного эпителия и 3D культуры РПЭ была исследована на световом микроскопе Biolar (PZO Warszawa, Польша), световом фазово-контрастном микроскопе IX81c интегрированной цифровой фотокамерой XC10 (Olympus, Япония) и лазерном сканирующем конфокальном

Таблица 1 | Table 1

Условия проведения протокола № 1 | Conditions for conducting Protocol No. 1

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	20% раствор сахарозы 20% sucrose solution	Комнатная Room	2 часа 2 hours
2	30% раствор сахарозы 30% sucrose solution	4°C	24 часа 24 hours
3	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
4	Раствор перманганата калия 0,25% 0.25% KMnO ₄ solution		30 минут 30 minutes
5	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)		2 минуты 2 minutes
6	1% раствор щавелевой кислоты 1% oxalic acid solution		2 минуты 2 minutes
7	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

Таблица 2 | Table 2

Условия проведения протокола № 2 | Conditions for conducting Protocol No. 2

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	10% раствор перекиси водорода 10% hydrogen peroxide solution	65°C	2 часа 2 hours
3	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water	Комнатная Room	5 минут 5 minutes

Таблица 3 | Table 3

Условия проведения протокола № 3 | Conditions for conducting Protocol No. 3

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	Раствор 1% перманганата калия 1% KMnO ₄ solution		5 минут 5 minutes
3	2% раствор щавелевой кислоты 2% oxalic acid solution		2 минуты 2 minutes
4	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

Таблица 4 | Table 4

Условия проведения протокола № 4 | Conditions for conducting Protocol No. 4

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	0,25% раствор перманганата калия 0.25% KMnO ₄ solution		40 минут 40 minutes
3	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)		2 минуты 2 minutes
4	1% раствор щавелевой кислоты 1% oxalic acid solution		5 минут 5 minutes
5	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)		2 минуты 2 minutes
6	0,25% раствор перманганата калия 0.25% KMnO ₄ solution		10 минут 10 minutes
7	1% раствор щавелевой кислоты 1% oxalic acid solution		5 минут 5 minutes
8	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

Таблица 5 | Table 5

Условия проведения протокола № 5 | Conditions for conducting Protocol No. 5

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	0,25% раствор перманганата калия 0.25% KMnO ₄ solution		30 минут 30 minutes
3	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)		2 минуты 2 minutes
4	1% раствор щавелевой кислоты 1% oxalic acid solution		10 минут 10 minutes
5	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)		2 минуты 2 minutes
6	0,3% раствор перекиси водорода в 95% этаноле 0.3% hydrogen peroxide solution in 95% ethanol		30 минут 30 minutes
7	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

Таблица 6 | Table 6

Условия проведения протокола № 6 | Conditions for conducting Protocol No. 6

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	0,25% раствор дихромата калия 0.25% potassium dichromate solution	65°C	30 минут 30 minutes
3	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
4	75% раствор этанола 75% ethanol solution		10 минут 10 minutes
5	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

Таблица 7 | Table 7

Условия проведения протокола № 7 | Conditions for conducting Protocol No. 7

№ No.	Манипуляция Procedure	Температура Temperature	Время Time
1	Отмывание в растворе PBS (на MQ воде) Rinsing in PBS solution (in MQ water)	Комнатная Room	2 минуты 2 minutes
2	37% раствор перекиси водорода 37% hydrogen peroxide solution		12 часов 12 hours
3	Отмывание в MQ воде Rinsing in MQ water		5 минут 5 minutes

микроскопе FluoView FV10i (Olympus, Япония). В качестве контроля использовались нативная ткань и 3D сфероиды, не подвергавшиеся депигментации.

Результаты

Полученные визуальные данные позволили судить о следующих характеристиках протоколов при исследовании посредством нативной световой микроскопии (табл. 8).

В рамках световой микроскопии нативной ткани наиболее оптимальным методом депигментации РПЭ представляется протокол № 2 – в условиях сохранности клеточной структуры РПЭ достигаются глубокие

значения депигментации при малой длительности осуществления. Конкурентоспособным может также являться протокол № 4, однако протокол № 2 имеет преимущество в условиях большей сохранности структуры.

Полученные результаты представлены наглядно, в рамках сравнения протоколов № 2, № 4 и № 5, в частности с точки зрения сохранности структуры препарата и степени депигментации (рис. 1).

Изготовленные препараты сфероидов РПЭ также были проанализированы в контексте исследования эффективности методов депигментации при проведении фазово-контрастной микроскопии (табл. 9).

Таблица 8 | Table 8

Характеристики протоколов для нативной световой микроскопии | Characteristics of protocols for light microscopy of native samples

№ No.	Сохранность структуры Structural preservation	Глубина депигментации Degree of depigmentation	Время Time
1	Средняя Moderate	Высокая High	1,5 часа 1.5 hours
2	Очень высокая Very high	Высокая High	2 часа 2 hours
3	Очень высокая Very high	Низкая Low	15 минут 15 minutes
4	Высокая High	Высокая High	1,5 часа 1.5 hours
5	Высокая High	Очень низкая Very low	2 часа 2 hours
6	Очень низкая Very low	Очень низкая Very low	40 минут 40 minutes
7	Очень низкая Very low	Высокая High	12 часов 12 hours

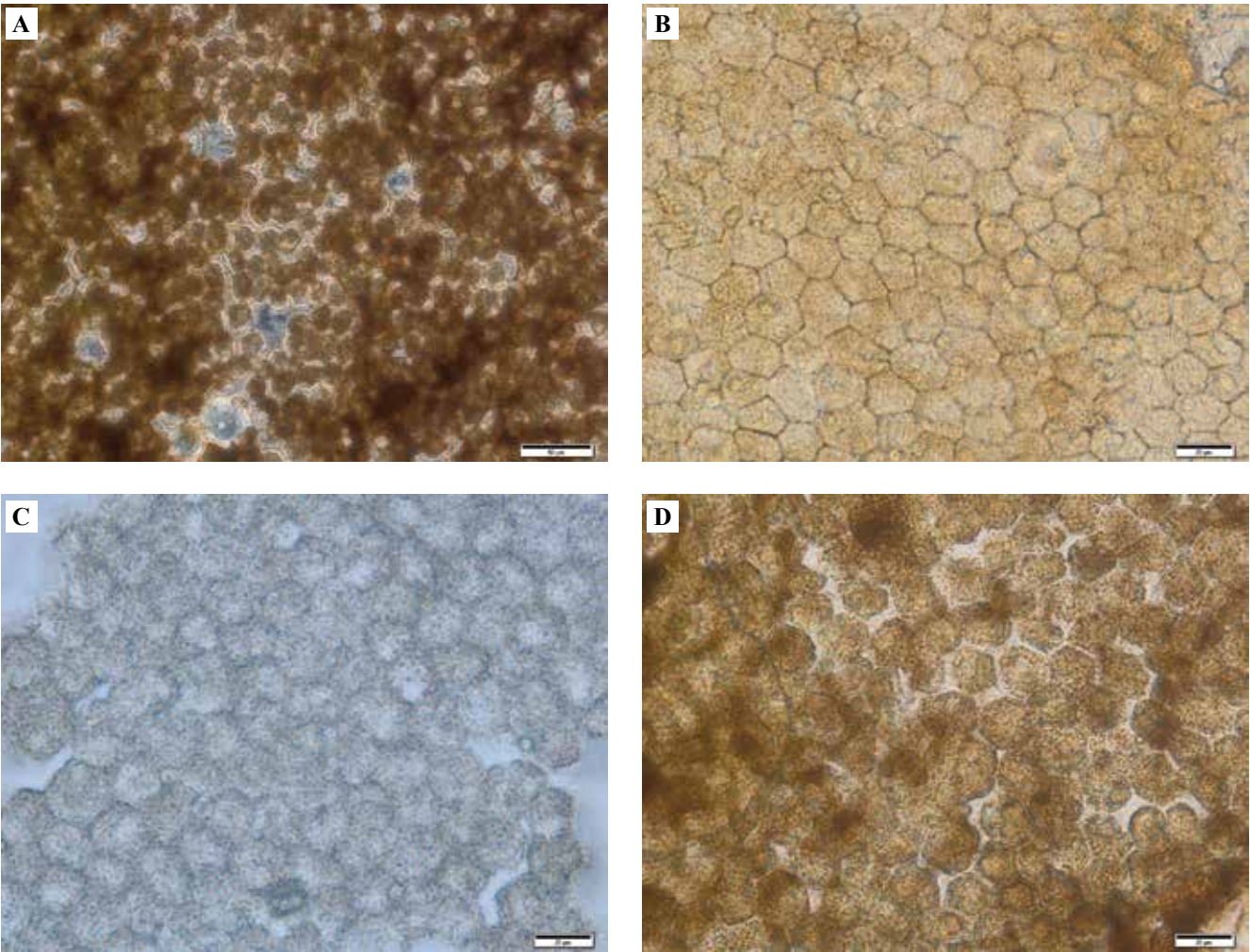


Рис. 1. Сравнение протоколов депигментации нативного РПЭ.
А – контроль, В – протокол № 2: очень высокая сохранность структур РПЭ при высокой глубине депигментации, С – протокол № 4: высокая глубина депигментации и высокая сохранность структур, D – протокол № 5: высокая сохранность структур при очень низкой глубине депигментации. Световая микроскопия, ×400

Fig. 1. Comparison of depigmentation protocols for native retinal pigment epithelium.
A – control, B – protocol No. 2: a very high preservation of retinal pigment epithelium structures is observed with a high degree of depigmentation, C – protocol No. 4: high depigmentation depth and high structural preservation, D – protocol No. 5: high structural preservation with a very low degree of depigmentation. Light microscopy, ×400

Таблица 9 | Table 9

Характеристики протоколов для фазово-контрастной микроскопии сфероидов ретинального пигментного эпителия | Characteristics of protocols for phase-contrast microscopy of retinal pigment epithelial spheroids

№ No.	Глубина депигментации Degree of depigmentation	Сохранность структуры Structural preservation	Равномерность депигментации Uniformity of depigmentation	Время Time
1	Средняя Moderate	Низкая Low	Высокая High	1,5 часа 1.5 hours
2	Высокая High	Очень высокая Very high	Высокая High	2 часа 2 hours
3	Низкая Low	Высокая High	Низкая Low	15 минут 15 minutes
4	Средняя Moderate	Высокая High	–	1,5 часа 1.5 hours
5	Низкая Low	Низкая Low	Низкая Low	2 часа 2 hours
6	Очень низкая Very low	Низкая Low	–	40 минут 40 minutes
7	Высокая High	Высокая High	Низкая Low	12 часов 12 hours

В данном контексте оптимальным также представляется выбор депигментации по протоколу № 2, так как именно он характеризуется наиболее высокими показателями глубины депигментации в условиях сохранности структуры клеток РПЭ и равномерности распределения действия при сравнительно быстром осуществлении. Для протоколов № 4 и № 6 оценка равномерности депигментации не проводилась ввиду гетерогенности полученного результата, не позволяющей отнести его к какой-либо категории.

Полученные результаты для протоколов № 2, № 4 и № 5 в контексте фазово-контрастной микроскопии представлены визуально (рис. 2).

На изображениях ретинального пигментного эпителия в рамках конфокальной микроскопии определяется ряд качественных различий (табл. 10).

Описанные протоколы могут быть рассмотрены с точки зрения различных характеристик. Так, на основании полученных данных наиболее эффективным методом депигментации может считаться протокол № 4, однако наиболее сохранной структурой отличаются препараты для протоколов № 2 и № 7. Наиболее значительна аутофлуоресценция для протоколов № 5 и № 7, однако ее интенсивность все-таки не обладает высокой выраженностью по сравнению с контролем, также следует отметить, что при протоколе № 5 разрушаются клетки.

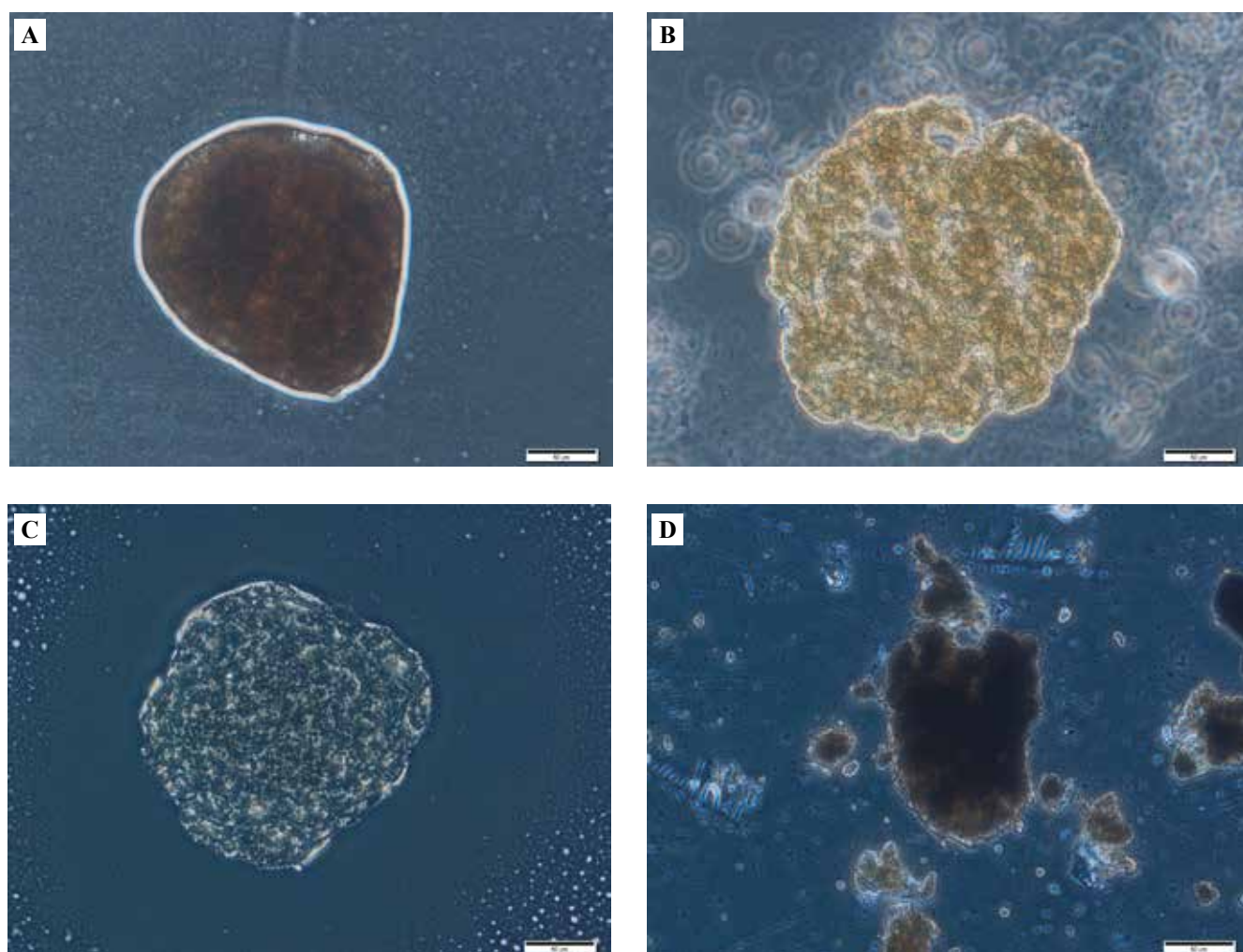


Рис. 2. Сравнение протоколов депигментации 3D сфероидов.

А – контроль, В – протокол № 2: очень высокая сохранность структур РПЭ при высокой глубине депигментации и ее высокой равномерности, С – протокол № 4: средняя глубина депигментации и высокая сохранность структур, D – протокол № 5: низкая сохранность структур при низкой глубине депигментации и ее значительной неравномерности. Фазово-контрастная микроскопия, $\times 200$

Fig. 2. Comparison of depigmentation protocols for 3D spheroids.

A – control, B – protocol No. 2: a very high preservation of retinal pigment epithelium structures is observed with a high degree of depigmentation, C – protocol No. 4: high depigmentation depth and high structural preservation, D – protocol No. 5: high structural preservation with a very low degree of depigmentation. Phase-contrast microscopy, $\times 200$

Таблица 10 | Table 10

Характеристики протоколов для конфокальной микроскопии | Characteristics of protocols for confocal microscopy

№ No.	Агрессивность Aggressiveness	Глубина депигментации Degree of depigmentation	Сохранность структуры Structural preservation	Аутофлуоресценция Autofluorescence	Время Time
1	Высокая High	Высокая High	Средняя Moderate	Средняя Moderate	1,5 часа 1.5 hours
2	Низкая Low	Средняя Moderate	Высокая High	Средняя Moderate	2 часа 2 hours
3	Низкая Low	Средняя Moderate	Очень высокая Very low	Низкая Low	15 минут 15 minutes
4	Средняя Moderate	Высокая High	Высокая High	Средняя Moderate	1,5 часа 1.5 hours
5	Высокая High	Очень высокая Very high	Низкая Low	Низкая Low	2 часа 2 hours
6	Очень высокая Very high	Высокая High	Низкая Low	Средняя Moderate	40 минут 40 minutes
7	Очень низкая Very low	Средняя Moderate	Очень высокая Very low	Очень низкая Very low	12 часов 12 hours

Полученные результаты представлены наглядно, в рамках сравнения протоколов № 2, № 4 и № 5, в частности с точки зрения сохранности структуры препарата (рис. 3).

В рамках проведения конфокальной микроскопии сфероидов также была получена комплексная оценка эффективности протоколов (табл. 11).

На данном этапе наибольшую эффективность продемонстрировали протоколы № 2 и № 4 – в условиях

сравнительно высокого уровня депигментации указанные протоколы позволяют сохранить клеточную структуру сфероидов, но оставляют умеренную аутофлуоресценцию (рис. 4).

Таким образом, процесс депигментации ретинального пигментного эпителия, в том числе в условиях культуры 3D сфероидов, требует расширенного анализа доступных ресурсов и получаемых результатов. В условиях чрезмерной агрессивности используемого ме-

Таблица 11 | Table 11

Характеристики протоколов для конфокальной микроскопии сфероидов ретинального пигментного эпителия | Characteristics of protocols for confocal microscopy of retinal pigment epithelial spheroids

№ No.	Глубина депигментации Degree of depigmentation	Сохранность структуры Structural preservation	Аутофлуоресценция Autofluorescence	Время Time
1	Средняя Moderate	Низкая Low	Очень высокая Very high	1,5 часа 1.5 hours
2	Высокая High	Высокая High	Средняя Moderate	2 часа 2 hours
3	Низкая Low	Низкая Low	Очень низкая Very low	15 минут 15 minutes
4	Высокая High	Высокая High	Средняя Moderate	1,5 часа 1.5 hours
5	Низкая Low	Низкая Low	Средняя Moderate	2 часа 2 hours
6	Низкая Low	Средняя Moderate	Низкая Low	40 минут 40 minutes
7	Очень низкая Very low	Очень низкая Very low	Очень низкая Very low	12 часов 12 hours

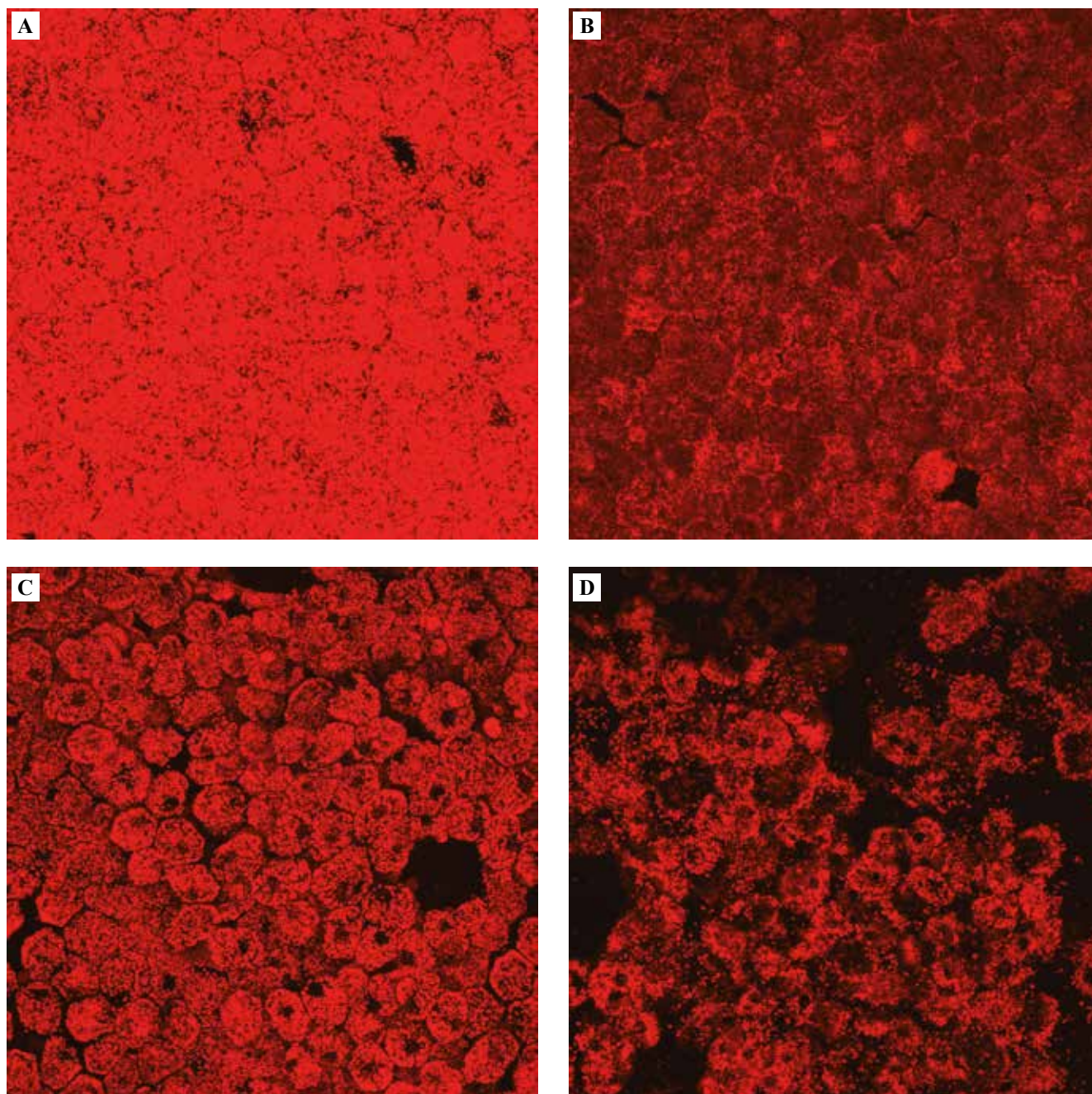


Рис. 3. Сравнение протоколов депигментации РПЭ для конфокальной микроскопии, $\times 600$.

А – контроль, В – протокол № 2: высокая сохранность структур РПЭ при средней глубине депигментации, низкой агрессивности и средней интенсивности аутофлуоресценции, С – протокол № 4: высокая сохранность структур РПЭ при высокой глубине депигментации, средней агрессивности и средней интенсивности аутофлуоресценции, D – протокол № 5: низкая сохранность структур РПЭ при очень высокой глубине депигментации, высокой агрессивности и низкой интенсивности аутофлуоресценции

Fig. 3. Comparison of depigmentation protocols for retinal pigment epithelium in confocal microscopy, $\times 600$.

A – control, B – protocol No. 2: high preservation of retinal pigment epithelium structures with a moderate degree of depigmentation, low aggressiveness, and moderate autofluorescence intensity, C – protocol No. 4: high preservation of retinal pigment epithelium structures with a high degree of depigmentation, moderate aggressiveness, and moderate autofluorescence intensity, D – protocol No. 5: low preservation of retinal pigment epithelium structures with a very high degree of depigmentation, high aggressiveness, and low autofluorescence intensity

тогда депигментации, например протокола № 5, в ряде случаев наблюдается нарушение клеточной структуры.

Также в связи с негативным влиянием высоких значений аутофлуоресценции на полученные результаты

исследования предпочтительными методами могут считаться протоколы № 2 и № 4.

Полученные данные представлены наглядно (табл. 12).

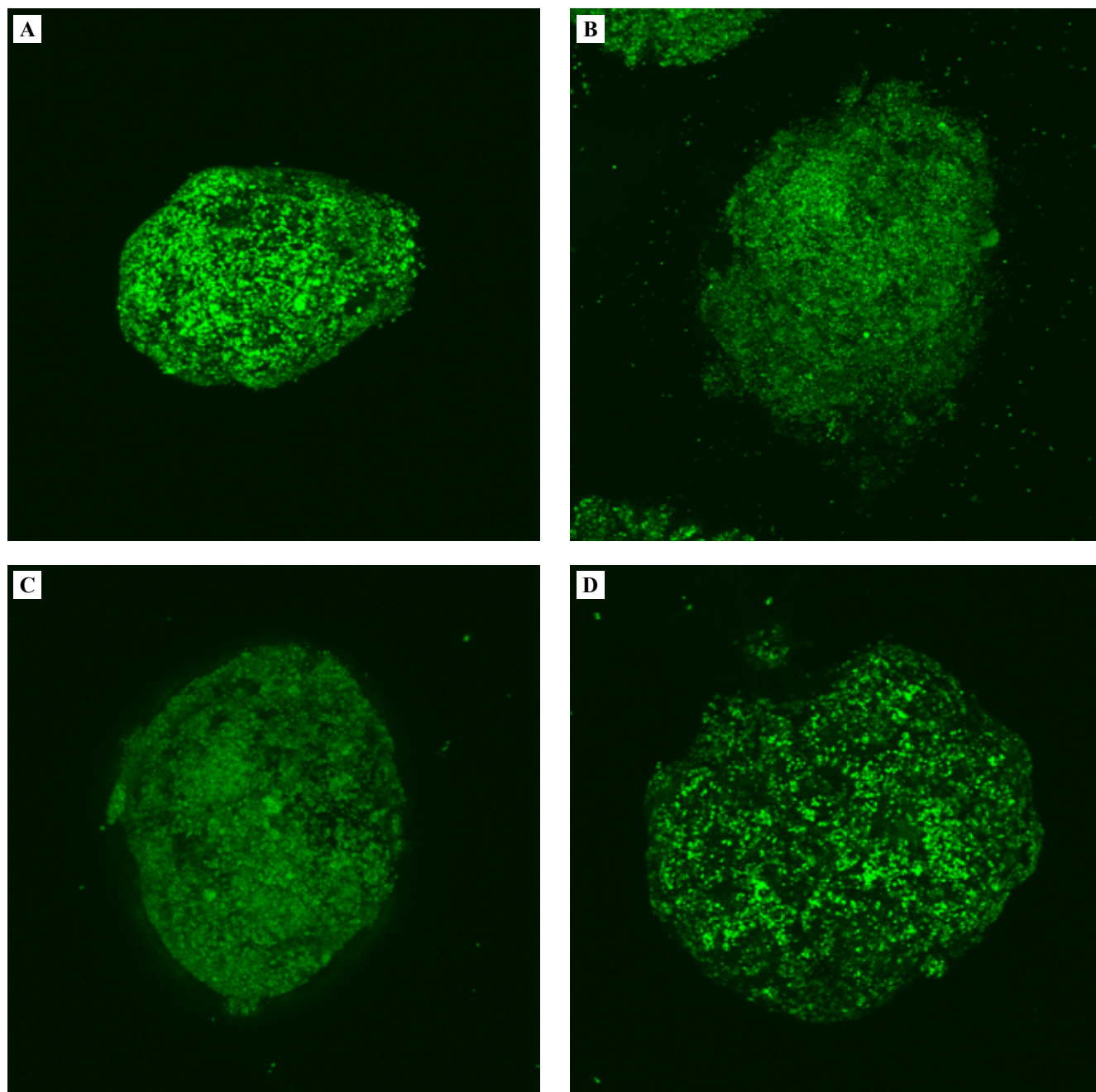


Рис. 4. Сравнение протоколов депигментации 3D сфероидов для конфокальной микроскопии, $\times 600$.

А – контроль, В – протокол № 2: представлена высокая сохранность структур РПЭ при высокой глубине депигментации и средней интенсивности аутофлуоресценции, С – протокол № 4: высокая сохранность структур РПЭ при высокой глубине депигментации и средней интенсивности аутофлуоресценции, Д – протокол № 5: низкая сохранность структур РПЭ при низкой глубине депигментации и средней интенсивности аутофлуоресценции

Fig. 4. Comparison of depigmentation protocols for 3D spheroids in confocal microscopy, $\times 600$.

А – control, В – protocol No. 2: high preservation of retinal pigment epithelium structures with a high degree of depigmentation and moderate autofluorescence intensity, С – protocol No. 4: high preservation of retinal pigment epithelium structures with a high degree of depigmentation and moderate autofluorescence intensity, Д – protocol No. 5: low preservation of retinal pigment epithelium structures with a low degree of depigmentation and moderate autofluorescence intensity

Таблица 12 | Table 12

Оптимальный протокол | The optimal protocol

Тип микроскопии Microscopy type	Оптимальный протокол Optimal protocol	Преимущества Advantages	Недостатки Limitations
Конфокальная (РПЭ) Confocal (retinal pigment epithelium)	№ 2, № 4 No. 2 and 4	Глубокая депигментация + сохранность структуры Deep depigmentation + structural preservation	Длительное время (1,5–2 часа) Long processing time (1.5–2 hours)
Нативная (РПЭ) Native (retinal pigment epithelium)	№ 2, № 4 No. 2 and 4	Высокая депигментация, минимальные повреждения High depigmentation, minimal damage	
Световая (сфероиды) Light microscopy (spheroids)	№ 2 No. 2	Равномерная депигментация, сохранность структуры Uniform depigmentation, preservation of cellular structure	–
Конфокальная (сфероиды) Confocal microscopy (spheroids)	№ 2, № 4 No. 2 and 4	Умеренная аутофлуоресценция, хорошая сохранность Moderate autofluorescence, good structural preservation	–

Заключение

В рамках конфокальной микроскопии ретинального пигментного эпителия предпочтительными являются протоколы № 2 и № 4. В свою очередь, при исследовании сфероидов оптимально применение протоколов № 2 (для световой и фазово-контрастной микроскопии) и № 4 (для конфокальной микроскопии) при особом преимуществе со стороны последнего ввиду наиболее высокой сохранности структуры. Вместе с тем необходимо отметить, что с точки зрения 3D клеточных сфероидов ретинального пигментного эпителия отмеченные протоколы были наилучшими, однако сохраняли аутофлуоресценцию, что говорит о необходимости дальнейшего изучения этого направления.

Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым выбор метода депигментации должен зависеть от типа биологического материала и целей микроскопического анализа, а также от необходимости сохранения первоначальной структуры изучаемого материала.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.А. Чурилов, С.А. Борзенко, Л.В. Кактурский, Д.С. Островский, Т.З. Керимов, М.Х. Хубецова.
Сбор и обработка материала – А.А. Чурилов, С.А. Борзенко, Л.В. Кактурский, Д.С. Островский, Т.З. Керимов.
Анализ данных – А.А. Чурилов, М.Х. Хубецова.
Написание текста – А.А. Чурилов, М.Х. Хубецова, Т.З. Керимов.
Редактирование – С.А. Борзенко, Л.В. Кактурский.

Author contribution

Conceived the study and designed the experiment – A.A. Churilov, S.A. Borzenok, L.V. Kakturskiy, D.S. Ostrovskiy, T.Z. Kerimov, M.Kh. Khubetsova.
Data collection – A.A. Churilov, S. A. Borzenok, L.V. Kakturskiy, D.S. Ostrovskiy, T.Z. Kerimov.
Data analysis – A.A. Churilov, M.Kh. Khubetsova.
Wrote the paper – A.A. Churilov, M.Kh. Khubetsova, T.Z. Kerimov.
Edited the manuscript – S.A. Borzenok, L.V. Kakturskiy.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Зак П.П., Бухтияров И.В., Прокофьев А.Б., Ларичев А.В., Большакова В.А., Измеров Н.Ф. и др.* Разработка рефлектометрического измерительного комплекса для оценки оптической плотности макулярных пигментов и концентрации фототоксических соединений в сетчатке глаза. Медицина труда и промышленная экология. 2009;7:31–36. Доступно по адресу: <https://elibrary.ru/item.asp?id=12689291> (получено 09.02.2026).
Zak PP, Boukhtiarov IV, Prokofiev AB, Larichev AV, Bolshakova VA, Izmerov NF et al. Specification of reflectometric measurement complex to evaluate optic density of macular pigments and concentration of phototoxic chemicals in retina. *Meditcina truda i promyshlennaya ekologiya = Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology.* 2009;7:31–36 (In Russ.). Available from <https://elibrary.ru/item.asp?id=12689291> (accessed 09.02.2026).

2. *Milman T, Grossniklaus HE, Goldman-Levy G, Kivelä TT, Coupland SE, White VA et al.* The 5th edition of the World Health Organization classification of tumours of the eye and orbit. *Ocul Oncol Pathol.* 2023;9(3-4):71–95. DOI: 10.1159/000530730.

3. *Zhang M, Zhang R, Zhao X, Ma Z, Xin J, Xu S et al.* The role of oxidative stress in the pathogenesis of ocular diseases: an overview. *Mol Biol Rep.* 2024;51(1):454. DOI: 10.1007/s11033-024-09425-5.

4. *Iwai-Takekoshi L, Ramos A, Schaler A, Weinreb S, Blazeski R, Mason C.* Retinal pigment epithelial integrity is compromised in the developing albino mouse retina. *J Comp Neurol.* 2016;524(18):3696–716. DOI: 10.1002/cne.24025.

5. *Manicam C, Pitz S, Brochhausen C, Grus FH, Pfeiffer N, Gericke A.* Effective melanin depigmentation of human and murine ocular tissues: an improved method for paraffin and frozen sections. *PLoS One.* 2014;9(7):e102512. DOI: 10.1371/journal.pone.0102512.

6. Nazir S, Charlesworth RPG, Walkden-Brown SW, Gerber PF. A melanin bleaching method to prevent non-specific immunostaining of chicken feathers. *MethodsX*. 2020;7:100957. DOI: 10.1016/j.mex.2020.100957.
7. Orchard GE, Calonje E. The effect of melanin bleaching on immunohistochemical staining in heavily pigmented melanocytic neoplasms. *Am J Dermatopathol*. 1998;20(4):357–61. DOI: 10.1097/00000372-199808000-00006.
8. Blenkinsop TA, Salero E, Stern JH, Temple S. The culture and maintenance of functional retinal pigment epithelial monolayers from adult human eye. *Methods Mol Biol*. 2013;945:45–65. DOI: 10.1007/978-1-62703-125-7_4.
9. Shen H, Wu W. Study of melanin bleaching after immunohistochemistry of melanin-containing tissues. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(4):303–7. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000075.
10. Hu L, Gao Y, Ren C, Chen Y, Cai S, Xie B et al. Retaining antigenicity and DNA in the melanin bleaching of melanin-containing tissues. *Int J Clin Exp Pathol*. 2020;13(8):2027–34. PMID: 32922597.

Информация об авторах

Алексей Александрович Чурилов – младший научный сотрудник лаборатории трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова.

Сергей Анатольевич Борзенко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, профессор кафедры офтальмологии Российского университета медицины.

Лев Владимирович Кактурский – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Дмитрий Сергеевич Островский – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова.

Тимур Захирович Керимов – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории трансплантологии и клеточной биологии Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, ассистент кафедры офтальмологии Российского университета медицины.

Мадина Хетагровна Хубецова – кандидат медицинских наук, заведующая глазным тканевым банком НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова.

Author information

Alexey A. Churilov – Junior Researcher, Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.
<https://orcid.org/0000-0003-1018-8257>

Sergey A. Borzenok – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”; Professor, Ophthalmology Department, Russian University of Medicine.
<https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Lev V. Kakturskiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0001-7896-2080>

Dmitriy S. Ostrovskiy – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-2817-7102>

Timur Z. Kerimov – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Transplantology and Cell Biology, Center for Fundamental and Applied Medical and Biological Problems, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”; Teaching Assistant, Ophthalmology Department, Russian University of Medicine.
<https://orcid.org/0000-0001-8967-6370>

Madina Kh. Khubetsova – Cand. Sci. (Med.), Head of the Eye Tissue Bank, S.N. Fedorov National Medical Research Center “MNTK “Eye Microsurgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-6378-8750>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

Особенности организации патоморфологической диагностики лимфом в условиях многопрофильного онкологического центра

Е.И. Шурыгина, И.В. Цветнов, Э.Н. Пирогова, Н.С. Карнаухов, Н.В. Кокосадзе, Н.В. Кремнева, Г.А. Дудина

ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Лимфомы – гетерогенная группа заболеваний, требующих стратифицированного подхода к диагностике в условиях высокой нагрузки патологоанатомического отделения. В связи с этим актуальна разработка диагностических алгоритмов и путей распределения биопсийного материала на этапе морфологического исследования с целью сокращения сроков анализа. Цель работы – создать алгоритмы маршрутизации образцов с подозрением на лимфому в патологоанатомическом отделении многопрофильного онкологического центра.

Материалы и методы. В статье представлены результаты ретроспективного анализа патоморфологических исследований биоматериала от пациентов с диагнозом «лимфома» в патологоанатомическом отделении МКНЦ имени А.С. Логинова за 2024 год.

Результаты. Статистический подсчет показал, что за указанный период в отделении было выполнено 1656 исследований (патоморфологических, иммуногистохимических, консультативных) с заключением «лимфома» на материале 731 пациента, что составило 1,8% от общего числа анализов. Число рабочих дней, затраченных на обработку одного образца, варьировало от одного до десяти, в среднем составляя 5,9 дня. Проведен анализ распределения В- и Т-клеточных лимфом по нозологиям с учетом метода и локализации взятия биоматериала.

Заключение. Для оптимизации сроков диагностики разработаны модель алгоритма маршрутизации биопсийного материала, а также стандартизация иммуногистохимических панелей. Выделены морфологические, клинические и социальные критерии, позволяющие ускорить анализ образцов. На основе этих критериев создан алгоритм организации потока биоматериала пациентов с подозрением на лимфопролиферативное заболевание.

Ключевые слова: лимфомы, алгоритмы диагностики, стандартизация, иммуногистохимические панели

Для корреспонденции: Елена Ивановна Шурыгина. E-mail: shuryiginalena@mail.ru

Для цитирования: Шурыгина Е.И., Цветнов И.В., Пирогова Э.Н., Карнаухов Н.С., Кокосадзе Н.В., Кремнева Н.В., Дудина Г.А. Особенности организации патоморфологической диагностики лимфом в условиях многопрофильного онкологического центра. Клини. эксп. морфология. 2026;15(3):85–94. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.85-94.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 12.09.2025. Получена после рецензирования 26.09.2025. Принята в печать 10.12.2025.

Organizing pathological diagnosis of lymphomas in a multidisciplinary oncology center

E.I. Shurygina, I.V. Tsvetnov, E.N. Pirogova, N.S. Karnaukhov, N.V. Kokosadze, N.V. Kremneva, G.A. Dudina

The Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Lymphomas are a heterogeneous group of diseases that require a stratified approach to diagnosis in conditions of high workload of a department of anatomic pathology. In this regard, the development of diagnostic algorithms and optimized approaches for the allocation of biopsy specimens during morphological evaluation is essential in order to reduce diagnostic turnaround time. The study aimed to develop algorithms for specimen allocation in cases of suspected lymphoma.

Materials and methods. We performed a retrospective analysis of pathomorphological examinations of biopsy specimens diagnosed as lymphoma in 2024 at the department of anatomic pathology of The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

Results. A total of 1,656 pathological, immunohistochemical, and consultative examinations were performed on specimens from 731 patients with a pathological diagnosis of lymphoma, accounting for 1.8% of all examinations conducted in the department. The diagnostic turnaround time ranged from 1 to 10 working days, with a mean of 5.9 days. The distribution of B-cell and T-cell lymphomas according to histological subtype, biopsy method, and anatomical site of specimen collection was analyzed.

Conclusion. We identified morphological, clinical, and social factors associated with a shorter diagnostic turnaround time. Based on these findings, to optimize the diagnostic turnaround time for suspected lymphoma, we developed an algorithm for processing and allocating biopsy specimens and proposed standardized immunohistochemical panels.

Keywords: lymphomas, diagnostic algorithms, standardization, immunohistochemical panels

Corresponding author: Elena I. Shurygina. E-mail: shuryginalena@mail.ru

For citation: Shurygina E.I., Tsvetnov I.V., Pirogova E.N., Karnaukhov N.S., Kokosadze N.V., Kremneva N.V., Dudina G.A. Organizing pathological diagnosis of lymphomas in a multidisciplinary oncology center. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)85–94 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.85-94.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 12.09.2025. **Received in revised form** 26.09.2025. **Accepted** 10.12.2025.

Введение

Лимфомы – это опухолевые лимфопролиферативные заболевания, характеризующиеся неконтролируемой пролиферацией лимфоидных клеток В-, Т- или NK-линий дифференцировки разной степени зрелости [1]. В 2023 году в России зарегистрировано более 30 тысяч впервые выявленных случаев злокачественных новообразований лимфоидной и кроветворной ткани [2].

Диагностика данной группы заболеваний отличается от диагностики солидных новообразований как в финансово-материальном аспекте, нуждаясь в значительных затратах на проведение иммуногистохимических, молекулярно-генетических исследований, так и в плане сложности, требуя в большинстве случаев от патоморфолога высокого уровня квалификации, способности интегрировать результаты смежных дисциплин – молекулярной генетики, цитогенетики, цитологии, данных клинической лабораторной диагностики и т.д. и клинической информации при формулировке патологоанатомического заключения [3–5]. Таким образом, важными компонентами окончательного диагноза становятся кооперация специалистов различных подразделений для интеграции результатов исследований, а также обсуждение с врачом-гематологом/онкогематологом для сопоставления полученных данных с определенным клиническим контекстом.

С учетом значительной биологической гетерогенности в группе лимфом, обуславливающей различное течение и прогноз, сохраняется большая потребность в совершенствовании подходов к стратификации пациентов с лимфомами для тех, у кого задержка в диагностике и, соответственно, старте интенсивной терапии может стать фатальной [6, 7]. В связи с этим актуальной является разработка диагностических алгоритмов, а также путей распределения пациентов с лимфомами, в том числе на этапе морфологического исследования,

с целью обеспечения потребностей клиницистов и оптимизации лечебного процесса.

В соответствии с приказом Минздрава России № 207н от 14.04.2025 (исследование биопсийного (операционного) материала, требующего проведения дополнительных иммуногистохимических методов с применением более пяти маркеров) диагностический процесс должен занимать до 15 рабочих дней после взятия биопсии во всех случаях, за исключением требующих проведения дополнительных методов исследования (например, молекулярно-генетических). Если для большинства индолентных лимфом это оптимальное время ожидания диагноза до начала терапии, то для агрессивных лимфом данные сроки недопустимы.

В соответствии с приказом Департамента здравоохранения города Москвы № 1334 от 30.12.2021 о создании межокружного гематологического центра сокращаются допустимые сроки выполнения исследований: гистологическое – до 5 рабочих дней, иммуногистохимическое – не более 14 рабочих дней со дня назначения. При этом в работе патологоанатомического отделения (ПАО) многопрофильного онкологического центра увеличивается доля материала с подозрением на гематологические, в том числе лимфопролиферативные заболевания, в связи с чем возникает необходимость в алгоритмизации путей распределения материала с данными нозологиями.

Цель исследования – разработать алгоритмы маршрутизации материала от пациентов с подозрением на лимфопролиферативное заболевание в условиях ПАО многопрофильного онкологического центра.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ исследований материала пациентов с морфологическим заключением «лимфома», выполненных в ПАО МКНЦ име-

ни А.С. Логинова за 2024 год. Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США) и таблиц Microsoft Excel (Microsoft, США).

Результаты

В 2024 году в ПАО МКНЦ имени А.С. Логинова было проведено 1656 исследований с патоморфологическим заключением «лимфома» на материале от 731 пациента, что составило 1,8% от общего числа диагностических мероприятий, выполненных в отделении за этот период.

Число исследований варьировало от одного до девяти на пациента, в среднем составляя две процедуры (гистологическое и иммуногистохимическое). Одно исследование на пациента преимущественно связано с консультативным материалом при предоставлении готовых гистологических и иммуногистохимических препаратов. Число исследований увеличивалось до девяти в случаях с неудачными биопсиями, при повторном взятии биоматериала, а также при необходимости гистологической верификации материала нескольких локализаций у одного пациента, в частности при трепанобиопсии костного мозга для стадирования лимфопролиферативного заболевания.

При анализе распределения лимфом по нозологиям В-клеточные лимфомы составляли 95% (693 случая), значительно преобладая над Т-клеточными лимфомами (5%, 38 случаев).

В группе В-клеточных лимфом преобладали индолентные (47,2%), включающие в себя В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфому из малых лимфоцитов (20,0%), фолликулярную лимфому (11,8%), экстранодальную лимфому маргинальной зоны из лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT-лимфома) (4,2%), а также нодальную и селезеночную лимфому из клеток маргинальной зоны (7,7%), лимфоплазмощитарную лимфому/макроглобулинемию Вальденстрема (2,5%), волосатоклеточный лейкоз (1,0%). Мантийноклеточная лимфома составила 4,2% от общего числа случаев (31 наблюдение). Лимфома Ходжкина диагностировалась чаще – в 12,3% случаев (90 наблюдений), среди которых выделили два подтипа: нодулярный тип лимфоидного преобладания (два случая) и классическую форму (88 случаев). Наиболее распространенной оказалась группа агрессивных В-клеточных лимфом – 30,4% (222 случая). В ее состав вошли диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (27,1%), плазмобластная лимфома (1,5%), лимфома Беркитта (0,4%), первичная медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома (0,8%), медиастинальная лимфома серой зоны (0,1%), В-лимфобластный лейкоз/лимфома без дополнительного уточнения (0,4%).

В группе Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний преобладали нодальные формы, включающие ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (1,1%)

и периферическую Т-клеточную лимфому без дополнительного уточнения (0,5%). Кожные формы заболевания встречались реже, представлены грибовидным микозом (0,8%), первичной кожной анапластической крупноклеточной лимфомой (0,3%) и единичным случаем первичной кожной гамма-дельта Т-клеточной лимфомы (0,1%). Также зафиксирован единичный случай Т-клеточной лимфомы, ассоциированной с энтеропатией (0,1%). Из этой группы в костном мозге преимущественно встречался Т-клеточный лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов (1%) и Т-лимфобластный лейкоз/лимфома без дополнительного уточнения (0,4%). Абсолютные показатели частоты диагностики В- и Т-клеточных лимфом и лейкозов в ПАО МКНЦ имени А.С. Логинова в 2024 году представлены на рисунке 1.

При анализе типа биоматериала в зависимости от метода его забора выявлено, что биопсийный материал составлял 66%, значительно преобладая над операционным (22%); 12% пришлось на консультативный материал готовых гистологических препаратов.

Среди локализаций, откуда проводился забор биоматериала, чаще всего встречались лимфатические узлы (39%), за ними следовал костный мозг (29%). Экстранодальные локализации (32%) представлены желудочно-кишечным трактом (13%), органами головы и шеи (5%), средостением, кожей и респираторной системой (по 2%). Другие локализации, составляющие 8%, включали молочные железы, женские половые органы, центральную нервную систему, яички, мочевой пузырь, брюшину, мягкие ткани, кости.

Для путей распределения материала в ПАО крайне важны сопроводительная клиническая информация и направительный диагноз. При анализе случаев диагностированных в 2024 году лимфом выявлено, что в 65% гематологическое заболевание было заподозрено клиницистом (включая диагнозы «неинфекционная болезнь лимфатических сосудов и лимфатических узлов неуточненная», «неспецифический лимфаденит неуточненный», «увеличение лимфатических узлов неуточненное», «болезнь крови и кровеносных органов неуточненная», «новообразование неопределенного или неизвестного характера лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей неуточненное» и др.), что позволило своевременно перенаправить материал на врача-патологоанатома, специализирующегося в области гематопатологии. В 8% было заподозрено злокачественное негематологическое заболевание. В 19% наблюдений материал поступил со входящим диагнозом «новообразование неопределенного или неизвестного характера...» и 8% без подозрения на злокачественное новообразование («доброкачественное новообразование», «общий медицинский осмотр», «специальное скрининговое обследование» и др.), что несколько усложняло маршрутизацию материала внутри ПАО и увеличивало время исследования.

Число рабочих дней, затраченных на патоморфологическое исследование материала от пациентов с диаг-



Рис. 1. Частота диагностики В- и Т-клеточных лимфом и лейкозов в ПАО МКНЦ за 2024 год (абсолютные показатели)

Fig. 1. Frequency of diagnosis of B-cell and T-cell lymphomas and leukemia in the Department of Anatomic Pathology, the Loginov Moscow Clinical Scientific Center, 2024 (absolute indicators)

нозом «лимфома», варьировало от одного до десяти, в среднем составляя 5,9 дня. Для сравнения: на анализ материала негематологического профиля уходило от одного до 15 рабочих дней, в среднем 5,7 дня. Данный показатель зависит от ряда факторов, включая особенности преаналитического этапа и степень сложности материала. В ряде случаев требуется проведение нескольких этапов иммуногистохимического исследования или применение дополнительных методов диагностики. Для большинства индолентных лимфом при отсутствии особых клинических указаний (запущенная стадия, тяжелое соматическое или психоэмоциональное состояние и др.) среднее время в 5,9 рабочего дня считается приемлемым. При агрессивных лимфомах и определенном клиническом контексте необходимо сокращать сроки исследования, чтобы ускорить начало лечения таких пациентов.

Обсуждение

Говоря об оптимизации диагностического процесса, необходимо помнить о возможных сложностях и ошибках в организации диагностики лимфом, которые могут происходить на всех этапах исследования биологического материала – преаналитическом, аналитическом и постаналитическом (рис. 2). Нужно понимать, что достоверность, оперативность и доступность полученной информации во многом зависят от слаженной работы.

Для оптимизации маршрутизации материала с подозрением на лимфопролиферативное заболевание внут-

ри ПАО разработана модель алгоритма распределения потоков материала с подозрением на лимфому (рис. 3), а также стандартизация иммуногистохимических панелей.

При клиническом диагнозе с подозрением на лимфопролиферативное заболевание с указанием соответствующего кода МКБ-10 (в том числе «неинфекционная болезнь лимфатических сосудов и лимфатических узлов неуточненная», «неспецифический лимфаденит неуточненный», «увеличение лимфатических узлов неуточненное», «болезнь крови и кроветворных органов неуточненная», «новообразование неопределенного или неизвестного характера лимфоидной, кроветворной и родственных им тканей неуточненное» и др.) на направлении, поступающем в ПАО, материал автоматически распределяется на врачей-гематопатологов. При отсутствии клинического направительного диагноза с подозрением на лимфопролиферативное заболевание либо указании некорректного направительного диагноза материал попадает к патологам, специализирующимся на негематологических нозологиях, что в большинстве случаев удлиняет сроки выполнения исследования.

Кроме того, в целях оптимизации рекомендуется использовать стандартизированные иммуногистохимические панели и алгоритм организации потока материала от пациентов с подозрением на лимфопролиферативное заболевание (рис. 4 и 5). При ограниченном объеме материала и неоднозначной морфологии опухоли

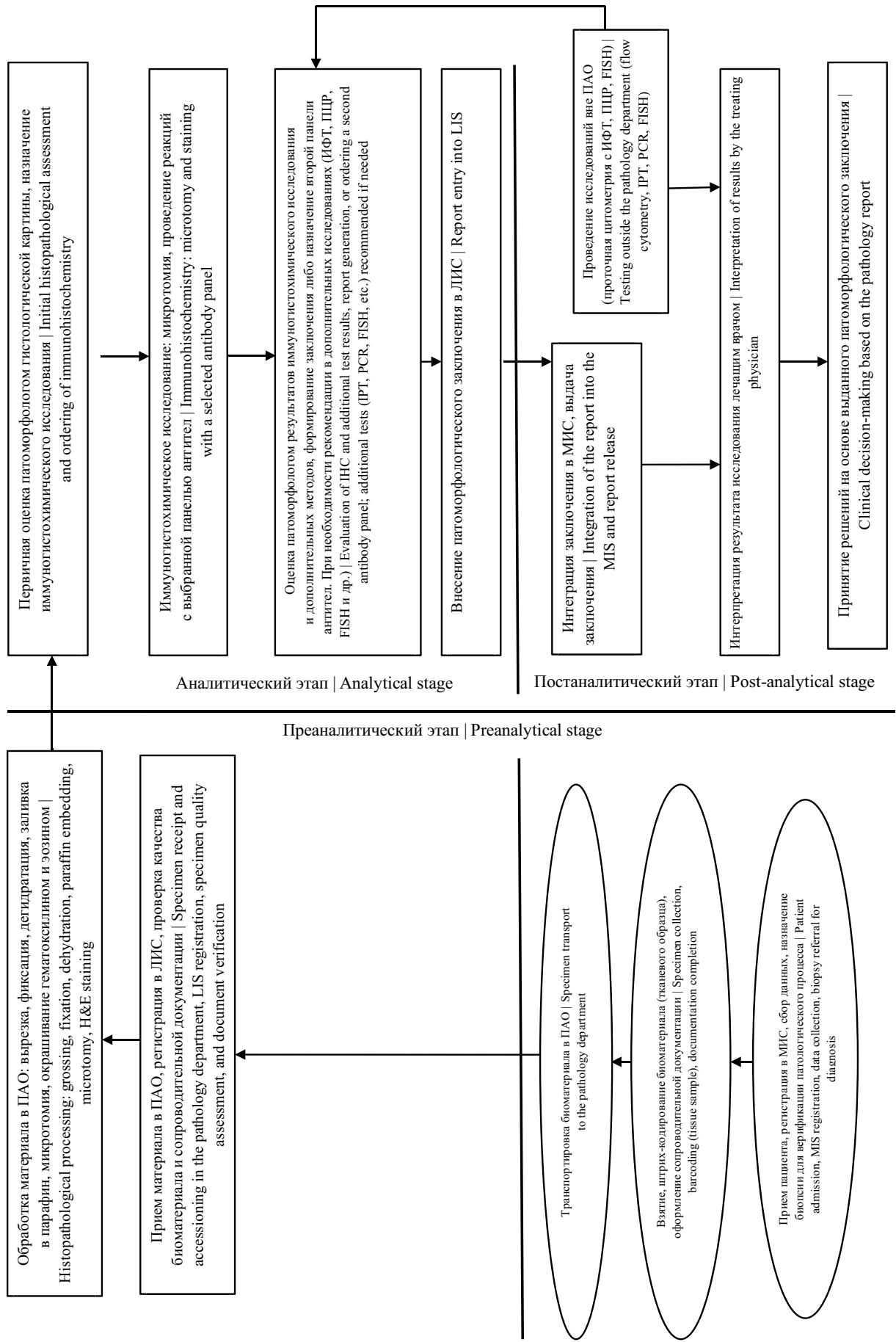


Рис. 2. Этапы диагностики лимфопролиферативного заболевания: схема потока биологического материала
Fig. 2. Stages of diagnosing lymphomas: allocation of biopsy specimens

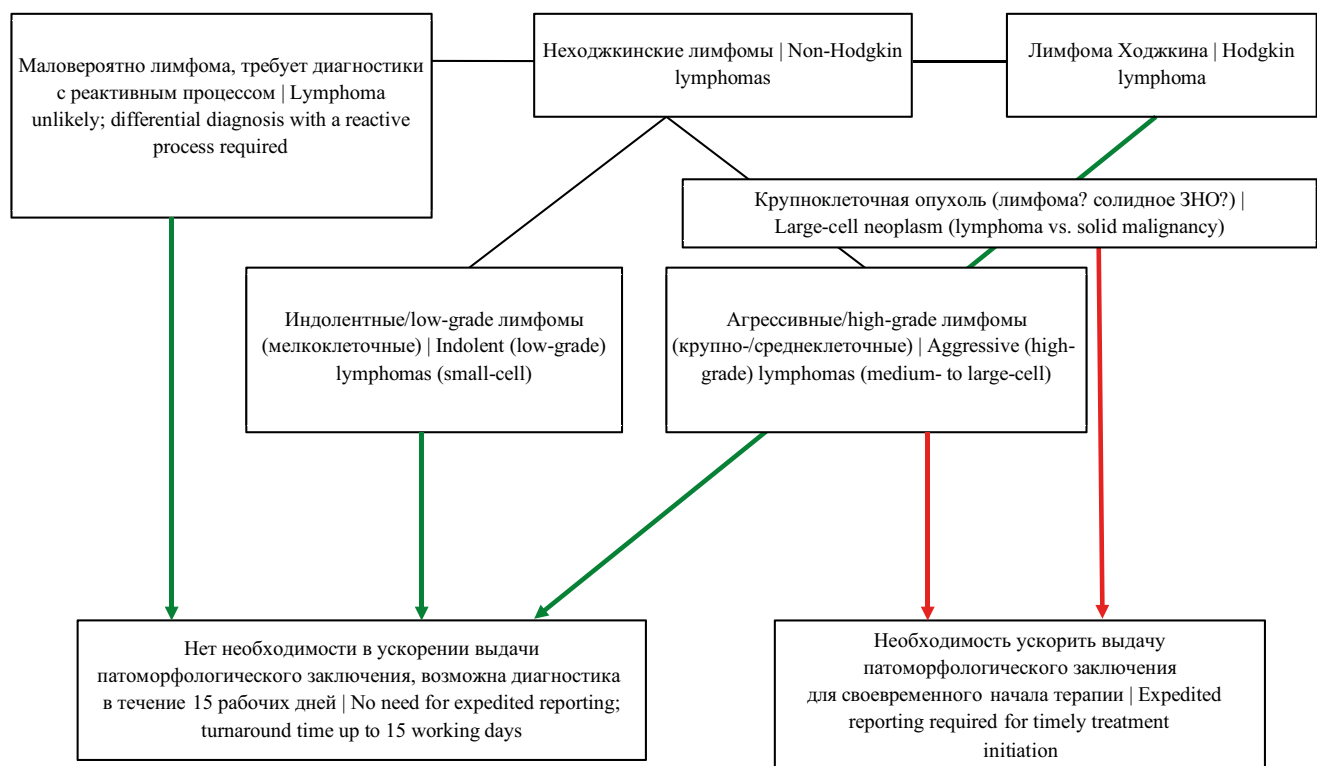


Рис. 3. Модель распределения потоков диагностического материала в зависимости от результатов гистологического исследования

Fig. 3. Model of allocating biopsy specimens depending on the results of histological examination

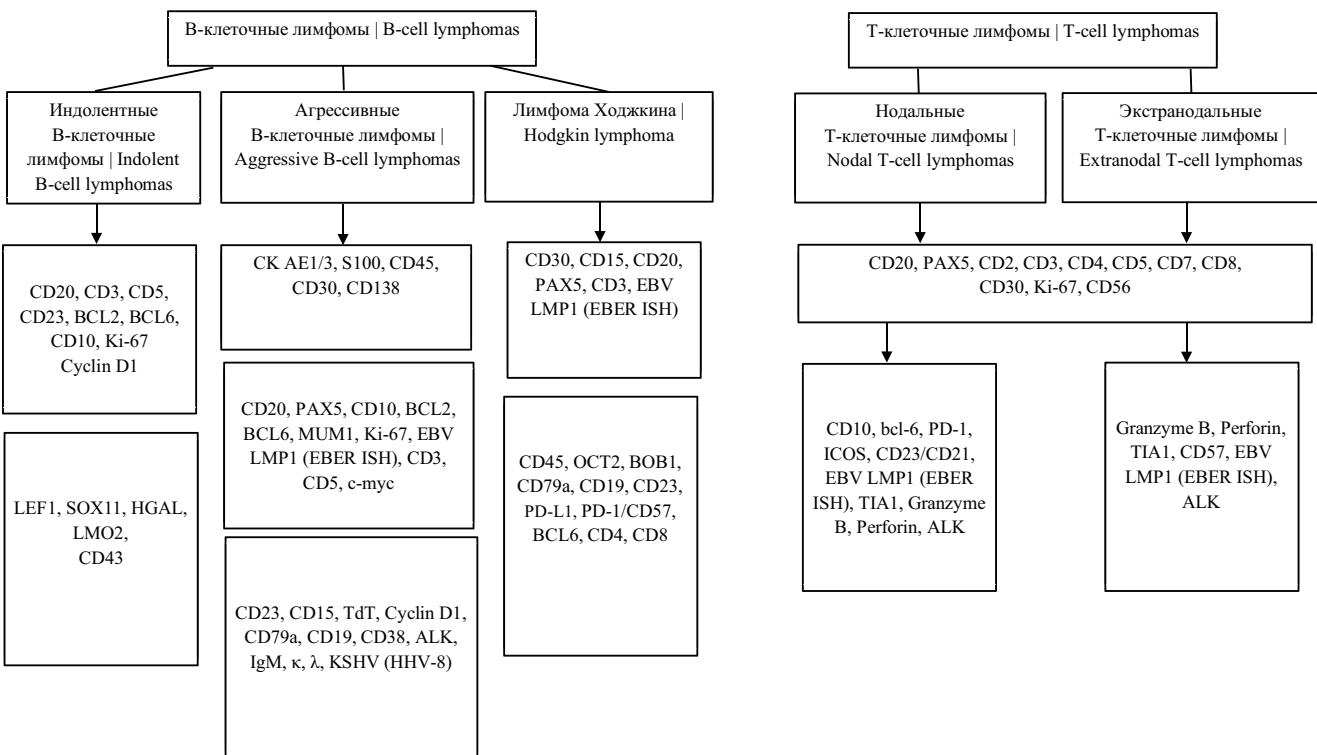


Рис. 4. Алгоритмированные иммуногистохимические панели при подозрении на лимфому

Fig. 4. Algorithmic immunohistochemical panels for suspected lymphoma

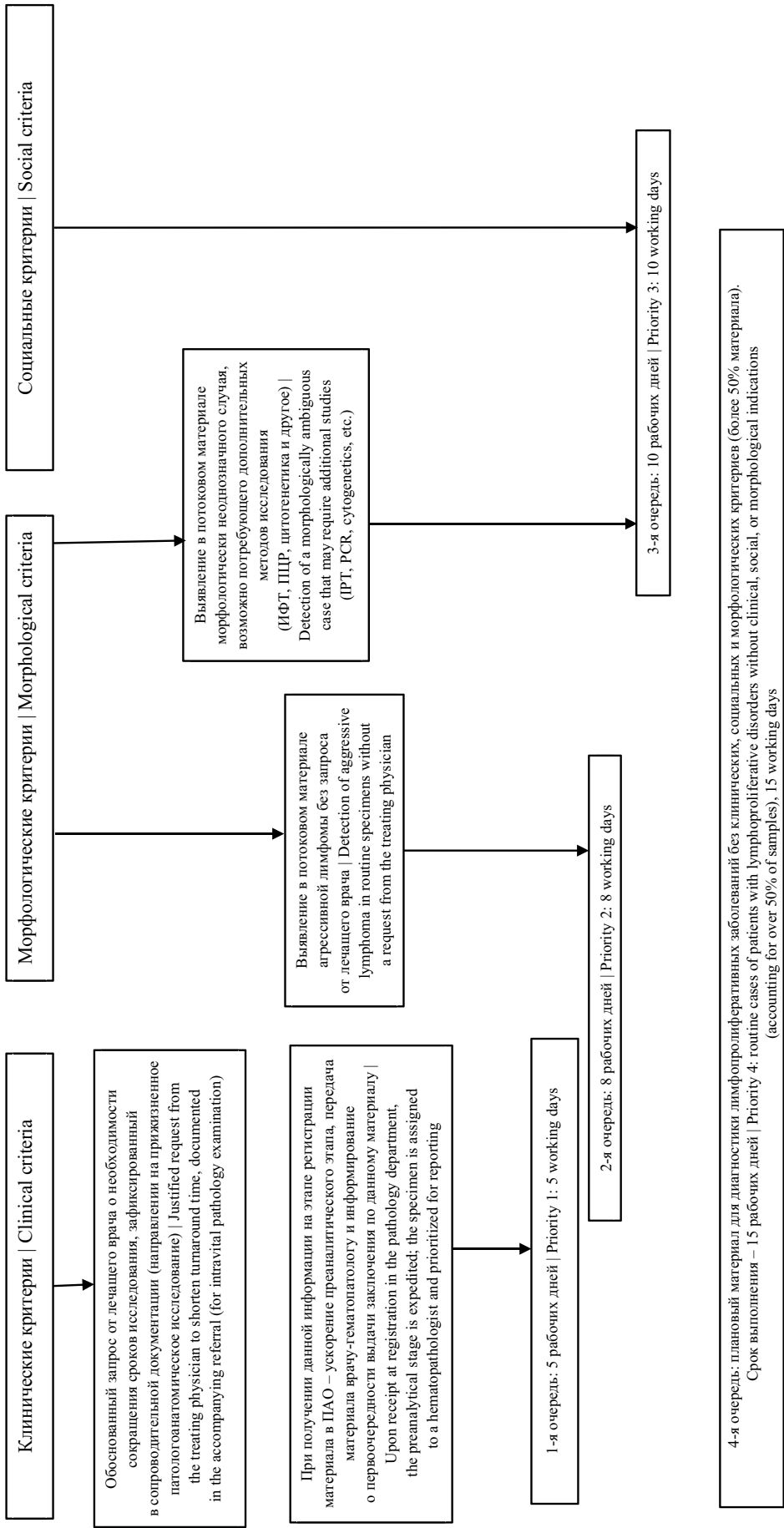


Рис. 5. Алгоритм маршрутизации в патологоанатомическом отделении диагностического материала пациентов с подозрением на лимфому
Fig. 5. Algorithm for allocating biopsy specimens from patients with suspected lymphoproliferative disorders in a pathology department

оправдана этапность в иммуногистохимическом исследовании. Для ускорения анализа, в том числе при клинических показаниях (тяжелое соматическое/психоэмоциональное состояние, требующее незамедлительного начала лечения) и достаточном объеме материала, возможно использование расширенной диагностической панели антител.

Рекомендуемая иммуногистохимическая панель при мелкоклеточной морфологической картине с подозрением на индолентное В-клеточное лимфопролиферативное заболевание: CD20, CD3, CD5, CD23, bcl-2, bcl-6, CD10, циклин D1, Ki-67. При неоднозначных результатах панель может быть дополнена в зависимости от ситуации следующими антителами: LEF1 и SOX11 (неоднозначные случаи CD5+ лимфом, в частности при дифференциальной диагностике хронического лимфоцитарного лейкоза/лимфомы из малых лимфоцитов и циклин D1-мантийноклеточной лимфомы); HGAL, LMO2 и CD43 (при неоднозначной реакции с CD10/bcl-6, в частности при дифференциальной диагностике фолликулярной лимфомы и лимфомы маргинальной зоны), CD19, CD22 и/или CD79a (при сниженной реакции с CD20 на фоне терапии ритуксимабом) [8, 9].

Рекомендуемая иммуногистохимическая панель при крупно- и средноклеточной морфологической картине с подозрением на агрессивное В-клеточное лимфопролиферативное заболевание следующая.

I этап: CK AE1/3, S100, CD45, CD30, CD138. При подтверждении лимфомы (CD45+/ CK AE1/3–/ S100–) рекомендуется расширенная панель антител II этапа.

II этап: CD20, PAX5, CD10, bcl-2, bcl-6, MUM1, Ki-67, EBV LMP1 (EBER ISH), CD3, CD5, с-тус. При очевидной картине лимфопролиферативного заболевания возможно исследование с антителами второго этапа иммуногистохимического исследования без подтверждающей панели первого этапа.

Данная панель должна быть дополнена 1) при медиастиальной локализации CD23 (особенно при наличии позитивной реакции с CD30, для дифференциальной диагностики с первичной медиастиальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой), CD15 (при частичной потере В-клеточных маркеров, для дифференциальной диагностики с медиастиальной лимфомой серой зоны); 2) при бластоидной/средноклеточной морфологии (для дифференциальной диагностики с В-лимфобластным лейкозом/лимфомой и бластоидным вариантом мантийноклеточной лимфомы) TdT, циклином D1; 3) при плазмобластной морфологии/потере реакции с CD20/PAX5 CD79a, CD19, ALK, KSHV/HHV-8, IgM, kappa, lambda, CD38 (для дифференциальной диагностики с ALK+ крупноклеточной В-клеточной лимфомой, KSHV/HHV+ диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой и плазмобластной лимфомой); 4) при наличии участков с фолликулярным паттерном – CD23/CD21 (для дифференциальной диагностики с фолликулярной лимфомой 3В цитологического типа) [10–12].

Рекомендуемая иммуногистохимическая панель при подозрении на классическую лимфому Ходжкина: CD30, CD15, CD20, PAX5, CD3, EBV LMP1 (EBER ISH). При выраженной реакции с CD20/PAX5 панель требуется дополнить: CD45, OCT2, BOB1, CD79a, CD19, PD-1/CD57, CD23, PD-L1, bcl-6, CD4, CD8 – для дифференциальной диагностики с нодулярным типом лимфоидного преобладания лимфомы Ходжкина, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой, первичной медиастиальной крупноклеточной В-клеточной лимфомой, медиастиальной лимфомой серой зоны (особенно при синцитиальном варианте классической лимфомы Ходжкина) [13].

Рекомендуемая первичная иммуногистохимическая панель при подозрении на Т-клеточную лимфому: CD20, PAX5, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD30, Ki-67, CD56. В зависимости от локализации (нодальная, экстранодальная), морфологических иммунофенотипических особенностей панель должна быть дополнена. При нодальной локализации: CD10, bcl-6, PD-1, ICOS, CD23/CD21, EBV LMP1 (EBER ISH), TIA1, гранзим В/перфорин, ALK (при выраженной реакции с CD30). При экстранодальной локализации (кожа, желудочно-кишечный тракт, костный мозг) первичная панель должна быть дополнена гранзимом В/перфорином и опционально расширена ALK (при выраженной реакции с CD30), TIA1, CD57, EBV LMP1 (EBER ISH) [14, 15].

Заключение

Резюмируя сказанное выше, следует подчеркнуть, что необходимость сокращения числа рабочих дней на патоморфологическое исследование зачастую обусловлена не только выявлением морфологически агрессивной лимфомы (морфологический критерий), но также рядом клинических и социальных показателей. К клиническим критериям, требующим сокращения сроков анализов, относятся критичные состояния, связанные с основным заболеванием и требующие незамедлительного начала лечения, запущенная стадия заболевания, наличие сопутствующей тяжелой соматической патологии, серьезные осложнения основного заболевания. Среди социальных критериев, требующих сокращения сроков патоморфологического исследования, можно выделить возраст (пожилой, молодой), беременность, социально значимый статус. С учетом перечисленных критериев разработан алгоритм организации потока материала от пациентов с подозрением на лимфопролиферативное заболевание.

Следует отметить, что часто клинический запрос о необходимости выдать предварительное патоморфологическое заключение с целью начала терапии имеет место при агрессивном морфологическом подтипе лимфомы. Реже это происходит при индолентных лимфомах на запущенных стадиях заболевания либо по социальным показаниям.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.И. Шурыгина, Н.С. Карнаухов, Э.Н. Пирогова, И.В. Цветнов.
Сбор и обработка материала – Е.И. Шурыгина, Э.Н. Пирогова, И.В. Цветнов.
Написание текста – Е.И. Шурыгина, Э.Н. Пирогова, Н.С. Карнаухов.
Редактирование – Е.И. Шурыгина, Н.В. Кокосадзе, Н.В. Кремнева, Г.А. Дудина.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.I. Shurygina, N.S. Karnaukhov, E.N. Pirogova, I.V. Tsvetnov.
Collected the data and performed the analysis – E.I. Shurygina, E.N. Pirogova, I.V. Tsvetnov.
Wrote the paper – E.I. Shurygina, E.N. Pirogova, N.S. Karnaukhov.
Edited the manuscript – E.I. Shurygina, N.V. Kokosadze, N.V. Kremneva, G.A. Dudina.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Silkenstedt E, Salles G, Campo E, Dreyling M.* B-cell non-Hodgkin lymphomas. *Lancet.* 2024;403(10438):1791–807. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02705-8.
2. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова (ред.). Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Москва: Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, 2024. 276 с.
AD Kaprin, VV Starinskiy, AO Shakhzadova (eds.). Malignant neoplasms in Russia in 2023 (incidence and mortality). Moscow: P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, 2024. 276 p. (In Russ.).
3. *Schroers-Martin JG, Alig S, Garofalo A, Tessoulin B, Sugio T, Alizadeh AA.* Molecular monitoring of lymphomas. *Annu Rev Pathol.* 2023;18:149–80. DOI: 10.1146/annurev-pathol-050520-044652.
4. *Wright GW, Huang DW, Phelan JD, Coulibaly ZA, Roulland S, Young RM et al.* A probabilistic classification tool for genetic subtypes of diffuse large B-cell lymphoma with therapeutic implications. *Cancer Cell.* 2020;37(4):551–68.e14. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.015.
5. *Gajzer D, Glynn E, Wu D, Fromm JR.* Flow cytometry for non-Hodgkin and Hodgkin lymphomas. *Methods Mol Biol.* 2025;2865:31–59. DOI: 10.1007/978-1-0716-4188-0_2.
6. *Syrykh C, Abreu A, Amara N, Siegfried A, Maisongrosse V, Frenois FX et al.* Accurate diagnosis of lymphoma on whole-slide histopathology images using deep learning. *NPJ Digit Med.* 2020;3:63. DOI: 10.1038/s41746-020-0272-0.
7. *Xu J, Shi Y, Cui M, Wang Y, Fan W, Yun J et al.* Development and validation of a hierarchical approach for lymphoma classification using immunohistochemical markers. *Cancer Med.* 2024;13(20):e70120. DOI: 10.1002/cam4.70120.
8. *Disanto MG, Ambrosio MR, Rocca BJ, Ibrahim HA, Leoncini L, Naresh KN.* Optimal minimal panels of immunohistochemistry for diagnosis of B-cell lymphoma for application in countries with limited resources and for triaging cases before referral to specialist centers. *Am J Clinical Pathol.* 2016;145(5):687–95. DOI: 10.1093/ajcp/aqw060.
9. *Ganapathi KA, Brown LE, Prakash S, Bhargava P.* New developments in non-Hodgkin lymphoid malignancies. *Pathology.* 2021;53(3):349–66. DOI: 10.1016/j.pathol.2021.01.002.
10. *Halcu G, Evsei-Seceleanu A, Cerbu M, Bara MA, Turbatu A, Ceausu MC.* From biopsy to diagnosis: navigating aggressive B-cell lymphomas in practice. *Medicina (Kaunas).* 2025;61(5):842. DOI: 10.3390/medicina61050842.
11. *Schneider M, Landsburg D.* The role of pathologic testing in the diagnosis and management of patients with diffuse large B-cell lymphoma: a narrative review. *Ann Lymphoma.* 2024;8:1. DOI: 10.21037/aol-23-19.
12. *King JF, Lam JT.* A practical approach to diagnosis of B-cell lymphomas with diffuse large cell morphology. *Arch Pathol Lab Med.* 2020;144(2):160–7. DOI: 10.5858/arpa.2019-0182-RA.
13. *Wang HW, Balakrishna JP, Pittaluga S, Jaffe ES.* Diagnosis of Hodgkin lymphoma in the modern era. *Br J Haematol.* 2019;184(1):45–59. DOI: 10.1111/bjh.15614.
14. *Zhang X, Zhou J, Han X, Wang E, Zhang L.* Update on the classification of and diagnostic approaches to mature T-cell lymphomas. *Arch Pathol Lab Med.* 2022;146(8):947–52. DOI: 10.5858/arpa.2021-0143-RA.
15. *Weiner DM, Rook AH.* Cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2024;38(5):1087–110. DOI: 10.1016/j.hoc.2024.05.012.

Информация об авторах

Елена Ивановна Шурыгина – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории патоморфологии, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова.

Илья Вадимович Цветнов – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова.

Эвелина Наильевна Пирогова – врач-патологоанатом патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова.

Николай Сергеевич Карнаухов – доктор медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением МКНЦ имени А.С. Логинова.

Наталья Валерьевна Кокосадзе – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения МКНЦ имени А.С. Логинова.

Наталья Валерьевна Кремнева – заведующая отделением гематологии и химиотерапии гемобластозов МКНЦ имени А.С. Логинова.

Галина Анатольевна Дудина – доктор медицинских наук, профессор, руководитель межклубного гематологического центра, заведующая отделением гематологии МКНЦ имени А.С. Логинова.

Author information

Elena I. Shurygina – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Pathology Laboratory, Pathologist, Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0002-0571-2803>

Ilya V. Tsvetnov – Pathologist, Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0009-0006-2512-1951>

Evelina N. Pirogova – Pathologist, Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0009-0004-4848-1226>

Nikolay S. Karnaukhov – Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0003-0889-2720>

Natalya V. Kokosadze – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, Pathology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0009-0004-8975-0568>

Natalya V. Kremneva – Head of the Department of Hematology and Chemotherapy of Hemoblastoses, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0009-0001-1032-6712>

Galina A. Dudina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Interdistrict Hematology Center, Head of Hematology Department, The Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0001-9673-1067>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).