

## ЛИТЕРАТУРА

1. Подзолкова НМ, Подзолков ВИ, Глазкова ОЛ, Топольская ИВ. Метаболический синдром у женщин: две грани одной проблемы. *Акушерство и Гинекология*. 2003;(6):28-33.
2. Шехтман ММ. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных. Москва, РФ; 1999. 815 с.
3. Балаболкин МИ, Клебанова ЕМ, Кремская ВМ. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний. Москва, РФ; 2008. 752 с.
4. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. Oct 20;120(16):1640-5. doi: 10.1161/ CIRCULATIONAHA.109.192644.
5. Дедов ИИ, ред. Ожирение. Метаболический синдром. Сахарный диабет 2 типа. Москва, РФ; 2000. 111 с.
6. Дедов ИИ, Бутрова СА, Дзгоева ФХ. Динамика факторов риска сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний у больных с абдоминальным типом ожирения. *Ожирение и Метаболизм*. 2004;(2):19-24.

## REFERENCES

1. Podzolkova NM, Podzolkov VI, Glazkova OL, Topol'skaya IV. Metabolicheskiy sindrom u zhenshchin: dve grani odnoy problemy. *Akusherstvo i Ginekologiya*. 2003;(6):28-33. (in Russ.)
2. Shekhtman MM. Rukovodstvo po ekstragenital'noy patologii u beremennykh. Moskva, RF; 1999. 815 p. (in Russ.)
3. Balabolkin MI, Klebanova EM, Kreminskaya VM. Differentsial'naya diagnostika i lechenie endokrinnykh zabolevaniy. Moskva, RF; 2008. 752 p. (in Russ.)
4. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. Oct 20;120(16):1640-5. doi: 10.1161/ CIRCULATIONAHA.109.192644.
5. Dedov II, ed. Ozhirenie. Metabolicheskiy sindrom. Sakharный diabet 2 tipa. Moskva, RF; 2000. 111 p. (in Russ.)
6. Dedov II, Butrova SA, Dzgoeva FK. Dinamika faktorov riska sakharного diabetа 2 tipa i serdечно-sosudistyykh zabolevaniy u bol'nykh s abdominal'nyim tipom ozhireniya. *Ozhirenie i Metabolizm*. 2004;(2):19-24. (in Russ.)

Поступила 19.02.2018

УДК 615.366:611.018.2

**СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ОКРАСКИ ПЛЕНОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ (ФРАГМЕНТОВ), СОСТОЯЩИХ ИЗ ОФОРМЛЕННОЙ ПЛОТНОЙ ВОЛОКНИСТОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ****А. М. Юрковский<sup>1</sup>, С. Л. Ачинович<sup>2</sup>, И. В. Назаренко<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Учреждение образования«Гомельский государственный медицинский университет»,  
г. Гомель, Республика Беларусь<sup>2</sup>Учреждение«Гомельский областной клинический онкологический диспансер»,  
г. Гомель, Республика Беларусь

**Цель:** разработать гистохимическую окраску, позволяющую более полно по сравнению с другими методами оценить морфологические характеристики как отдельных клеток, так и тканевых структур.

**Материалы.** Данные секционных исследований 70 субъектов: 35 субъектов — контрольная группа (окраска фрагментов связок осуществлялась гематоксилин-эозином), 35 субъектов — основная (окраска фрагментов связок осуществлялась толуидиновым синим и ядерным прочным красным).

**Результаты.** Диапазон значений ядерно-цитоплазматического отношения при окраске материала толуидиновым синим и ядерным прочным красным был более узким и содержал меньшее количество «выбросов», чем диапазон значений ядерно-цитоплазматического отношения при окраске гематоксилин-эозином:  $0,46 \pm 0,04$  и  $0,46 \pm 0,07$  соответственно.

**Заключение.** Предложенный новый способ окраски позволяет быстро приготовить препарат (время от момента взятия материала до получения готового препарата составляет около 3 часов), а кроме того, обеспечивает получение данных с меньшим разбросом значений ядерно-цитоплазматического отношения по сравнению с традиционным способом окраски.

**Ключевые слова:** связки, окраска гематоксилин-эозином, окраска толуидиновым синим и ядерным красным прочным, ядерно-цитоплазматическое отношение.

**THE TECHNIQUE OF MAKING AND STAINING OF FILM PREPARATIONS (FRAGMENTS) CONSISTING OF FRAMED DENSE FIBROUS CONNECTION TISSUE****A. M. Yurkovskiy<sup>1</sup>, S. L. Achinovich<sup>2</sup>, I. V. Nazarenko<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus<sup>2</sup>Gomel Regional Oncological Clinic, Gomel, Republic of Belarus

**Objective:** to develop a histochemical staining technique that allows to make a more complete evaluation of the morphological characteristics of both separate cells and tissue structures in comparison with other methods.

**Materials.** Data from sectional examination of 70 subjects: 35 subjects of the control group (staining of ligament fragments in this group was carried out with hematoxylin-eosin) and 35 subjects of the main group (staining of ligament fragments in this group was performed with toluidine blue and nuclear strong red).

**Results.** The range of values of the nuclear-cytoplasmic ratio when material was stained with toluidine blue and nuclear fast red was much narrower and contained less «emissions» than the range of values of the nuclear-cytoplasmic ratio when stained with hematoxylin-eosin:  $0.46 \pm 0.04$  and  $0.46 \pm 0.07$ , respectively.

**Conclusion.** The proposed new staining method makes it possible to get the preparation quickly (the time from the moment of taking the material till procurement of the finished preparation is about 3 hours), and besides, it ensures obtainment of data with a smaller spread of the values of the nuclear-cytoplasmic ratio in comparison with the traditional staining technique.

**Key words:** ligaments, hematoxylin and eosin staining, toluidine blue and nuclear fast red staining, nuclear-cytoplasmic ratio.

### **Введение**

Синдром боли в нижней части спины может быть следствием повреждения подвздошно-поясничных (ППС), задних длинных крестцово-подвздошных (ЗДКПС) и крестцово-бугорных (КБС) связок [1–2]. Риск повреждения указанных связок зависит от выраженности имеющихся в них на момент перегрузки дистрофических изменений [3–5]. Своевременное выявление таких изменений невозможно без уверенности в том, что используемые лучевые критерии надежны. Проверить же это можно только гистологически. Обычно с этой целью используют методику полуколичественной (балльной) оценки по шкале Bonar [3–5], либо, при наличии незначительного количества материала, методику морфометрической оценки клеток фибробластического дифферона, то есть оценки по величине ядерно-цитоплазматического отношения или же отношения наибольшего поперечного размера ядра к продольному [6]. Однако последние способы верификации патоморфологических изменений недостаточно точны [6]. Одной из причин их недостаточной точности является то, что при окраске гематоксилин-эозином на участках, где имеются спирально закрученные волокна, фибробласты могут оказываться на разных уровнях, что неизбежно приводит к утрате частью клеток четкости контуров. Последнее не удивительно, поскольку и цитоплазма клеток, и волокна коллагена окрашиваются почти одинаково. Отсюда следует необходимость в разработке нового способа окраски, учитывающего вышеприведенное обстоятельство.

### **Цель исследования**

Разработать гистохимическую окраску, позволяющую более полно по сравнению с другими методами оценить морфологические характеристики как отдельных клеток, так и тканевых структур.

### **Материалы и методы**

Материалом исследования стали данные секционных исследований 70 субъектов. Были сформированы две группы: контрольная и основная. В контрольной (35 субъектов) окраска

связок осуществлялась по традиционной методике: связки фиксировались в 10 % забуференном формалине, подвергались стандартной парафиновой проводке, срезы толщиной 5 мкм окрашивались только гематоксилин-эозином. В основной группе (35 субъектов) где окраска связок проводилась по новой методике толуидиновым синим и ядерным прочным красным на пленочных препаратах.

При окраске толуидиновым синим и ядерным прочным красным исследуемый участок соединительной ткани (связки) зажимали пинцетом и лезвием одноразового микротомного ножа или острыми ножницами делали плоскопараллельные срезы толщиной менее 1 мм. Полученные фрагменты связок наносили на предметное стекло и покрывали другим предметным стеклом. Затем предметные стекла прижимали друг к другу и делали отпечатки. Отпечатки фиксировались в ацетоне и высушивались при 37 °C в течение 2 часов. Далее препараты обрабатывались 0,1 н. HCl при комнатной температуре в течение 8 минут и промывались в дистиллированной воде трижды по 2 минуты.

Раствор (0,45%) толуидинового синего наносили на препараты на ТРИС-HCl буфере (пополам с водой) при pH = 9,1 и окрашивали в течение 2 минут. Затем препараты просматривались под малым увеличением микроскопа: если клетки прокрашивались недостаточно, время окрашивания увеличивали до 5 минут, если чрезмерно — отмывали в 70 % этаноле. После этого препарат промывался проточной водой в течение 10 минут. Далее на препарат на 5–10 минут наносился 0,1 % раствор красителя ядерного прочного красного с последующим промыванием в проточной воде в течение 10 минут.

Препараты проводились через батарею спиртов, обрабатывались ксилолом (по 2 минуты трижды) и заключались в перманентную монтирующую среду (полистирол, канадский бальзам и др.).

Гистологические препараты фотографировали в 3 полях зрения (объектив 10) и в 5 полях зрения (объектив 40) при помощи микроскопа Olympus CX 41 RF с цифровой камерой Olym-

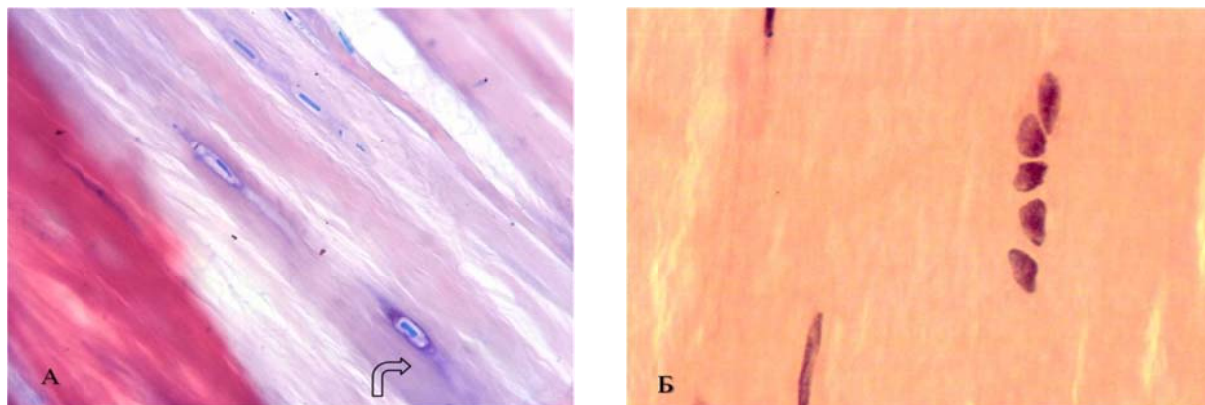
pus SC20 с разрешением 1596×1196 пикселей. Площадь поля зрения исследуемого изображения определялась при помощи программы анализа изображений Aperio Image Scope и составила 1908816  $\mu\text{m}^2$  (объектив 10) и 119301  $\mu\text{m}^2$  (объектив 40).

Статистический анализ полученных данных осуществлялся при помощи пакета прикладных программ IBM SPSS «Statistics», Version 20. Оценка нормальности распределения признаков проводилась с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае распределения

количественных показателей, отличного от нормы, данные представлялись в виде медианы 25-го и 75-го перцентилей: Me (25%–75%), при нормальном распределении признаков – в виде среднего арифметического и стандартного отклонения среднего арифметического ( $M \pm SD$ ).

### Результаты

Время от момента взятия материала до получения готового препарата в общей сложности составило около 3 часов. Ниже представлены результаты окрашивания по модифицированной (А) и стандартной (Б) методикам (рисунок 1).



**Рисунок 1 — Результаты окрашивания по модифицированной и стандартной методикам:**  
**А — фрагмент ППС: окраска толуидиновым синим и ядерным красным прочным, увеличение: ×400**  
**(стрелкой показано место с дистрофическими изменениями — участок метахроматического окрашивания толуидиновым синим, структуры ядра отчетливо дифференцируются); Б — фрагмент ППС (окраска гематоксилин-эозин, увеличение: ×400, коллагеновые волокна светло-красного цвета, ядра — темно-фиолетовые, хроматин нечетко визуализируется)**

**Таблица 1 — Сравнение морфометрических параметров клеток фибробластического дифферона, полученных при оценке материала, окрашенного по стандартной и модифицированной методикам (мкм)**

Стандартная методика			Модифицированная методика		
Площадь ядра (мкм <sup>2</sup> )	Площадь цитоплазмы (мкм <sup>2</sup> )	ЯЦО	Площадь ядра (мкм <sup>2</sup> )	Площадь цитоплазмы (мкм <sup>2</sup> )	ЯЦО
479,1	939,5	0,51	452	941,7	0,48
539,7	999,5	0,54	491	1002,5	0,49
357,4	851	0,42	372	854	0,44
210,4	526	0,4	257	529,9	0,48
272,3	592	0,46	267	595	0,45
309,6	645	0,48	266	648	0,41
307,7	641	0,48	281	645	0,48
449,3	936	0,48	376	941	0,39
528,2	1100,5	0,48	504,2	1111,3	0,45
502,3	1046,5	0,48	472,3	1050,3	0,45
533,1	952	0,56	557,9	958,3	0,58
475,5	1285	0,37	552	1293	0,43
508,8	1106	0,47	505,6	1112,5	0,45
314,1	641	0,49	279	646	0,48
492,1	1047	0,47	474,1	1052,3	0,45
287,1	522	0,55	255	528,4	0,49
511,5	1112	0,46	502,3	1118,2	0,46
628,2	1282	0,49	549	1289	0,47
344,8	932	0,37	371	936	0,38
274	884	0,31	388,6	890,2	0,44
346,5	845	0,41	371	851	0,41
280,2	875,5	0,32	382,4	885,6	0,43

Окончание таблицы 1

Стандартная методика			Модифицированная методика		
Площадь ядра (мкм <sup>2</sup> )	Площадь цитоплазмы (мкм <sup>2</sup> )	ЯЦО	Площадь ядра (мкм <sup>2</sup> )	Площадь цитоплазмы (мкм <sup>2</sup> )	ЯЦО
479,3	1042	0,46	469,2	1048,2	0,45
311,2	889	0,35	374,5	892,5	0,45
397,1	1045	0,38	472,5	1046,1	0,49
469,8	1044	0,45	469,5	1049,2	0,43
364,8	935,5	0,39	449	945,5	0,49
477,9	1039	0,46	461,4	1045,5	0,44
476,6	1036	0,45	458,5	1041,2	0,45
281,9	522	0,54	251	526,5	0,51
467,6	1039	0,45	469,2	1040,2	0,48
535	1049	0,51	464,3	1050,1	0,44
281,9	522	0,54	251	525,8	0,48
258	469	0,55	248	473	0,52
267	485,5	0,55	258	491	0,53

Примечание: ЯЦО — ядерно-цитоплазматическое соотношение

Приготовление препарата по новой методике потребовало гораздо меньше времени — около 3 часов, чем при приготовлении гистологических препаратов по традиционной методике, где требуется около 3 суток.

Как следует из данных, приведенных в таблице 1, диапазон значений площади ядра в основной группе был более узким и содержал меньшее количество «выбросов», чем в группе контроля (медиана 25-го и 75-го перцентилей):

449,0 (279,0–472,5) мкм<sup>2</sup> и 397,0 (287,0–492,0) мкм<sup>2</sup> (рисунок 2).

Аналогичная тенденция, однако менее выраженная, наблюдалась при анализе показателей площади цитоплазмы: 936,0 (641,0–1045,0) мкм<sup>2</sup> и 941,0 (646,0–1049,0) мкм<sup>2</sup>. Приведенные выше данные объясняют и меньший разброс значений ЯЦО в основной группе по сравнению с группой контроля:  $0,46 \pm 0,04$  и  $0,46 \pm 0,07$  соответственно (рисунок 3).

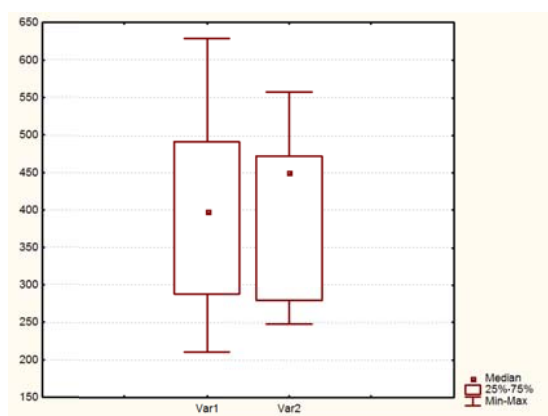


Рисунок 2 — Диапазон значений площади ядра в контрольной и основной группах.

Var. 1 – значения площади ядер при окраске гематоксилин-эозином; Var. 2 — значения площади ядер при окраске толуидиновым синим и ядерным красным прочным

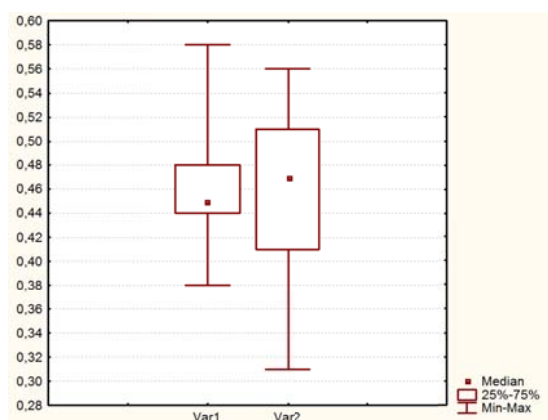


Рисунок 3 – Значения ЯЦО в основной и контрольной группах: Var. 1 — при окраске толуидиновым синим и ядерным красным прочным; Var. 2 — при окраске гематоксилин-эозином

### Заключение

Предложенный нами метод по сравнению с существующими обладает следующими преимуществами:

1) меньшим, чем при стандартной окраске, разбросом морфометрических данных, а значит, и большей точностью оценок выраженности дистрофических изменений;

2) возможностью исследования отдельных клеток не только в одном препарате, как при цитологическом методе, но и во фрагментах ткани, как при гистологическом исследовании;

3) возможностью быстрого приготовления препарата: время от момента взятия материала до готового препарата составляет около 3 часов;

4) результаты исследования сопоставимы с результатами гистологического исследования с использованием крупных гистологических срезов (после фиксации в формалине и парафиновой проводки).

Наряду с вышеуказанными преимуществами предложенный метод имеет и некоторые недо-

статки: исследуемые фрагменты тканей на предметном стекле небольших размеров — 3 мм и менее, поэтому для оценки состояния связок в целом необходимо брать материал из многих участков связки, то есть на всем протяжении.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Юрковский АМ. Подвздошно-поясничная связка: анатомический базис для лучевого диагноста. *Проблемы здоровья и экологии*. 2010;4:84–89.
2. Юрковский АМ, Ачинович СЛ, Латышева ВЯ. Связки, ассоциированные с крестцово-подвздошным сочленением: анатомический базис для лучевого диагноста. *Проблемы здоровья и экологии*. 2013;4:67–72.
3. Юрковский АМ, Ачинович СЛ, Кушнеров АИ. Возможности сонографии в оценке выраженности дистрофических изменений подвздошно-поясничной связки: сонографические и гистологические сопоставления (in vitro). *Военная медицина*. 2014;4:66–69.
4. Михайлов АН, Юрковский АМ, Ачинович СЛ. Возможности сонографии в оценке выраженности дистрофических изменений задней длинной крестцово-подвздошной связки: сонографические и гистологические сопоставления (in vitro). *Известия НАН Беларуси (серия медицинских наук)*. 2014;4:9–13.
5. Юрковский АМ, Аникиев ОИ, Ачинович СЛ. Дистрофические изменения крестцово-бугорной связки: сонографические и гистологические параллели (in vitro). *Проблемы здоровья и экологии*. 2015;3:33–37.
6. Юрковский АМ, Ачинович СЛ. Диагностическая значимость морфометрических показателей клеток фибробластического дифферона при оценке выраженности дистрофических изменений подвздошно-поясничных связок. *Проблемы здоровья и экологии*. 2014;1:102–107.
7. Сапожникова АГ, Доросевич АЕ. Гистологическая и микроскопическая техника: руководство. Смоленск, РФ; 2013. 467 с.

#### REFERENCES

1. Jurkovskij AM. Podvzdoshno-pojasnichnaja svjazka: anatomicheskij bazis dlja lucheвого diagnosta. *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2010;4:84–89. (in Russ.)
2. Jurkovskij AM, Achinovich SL, Latysheva VJa. Svjazki, asociirovannye s krestcovo-podvzdoshnym sochleneniem: anatomicheskij bazis dlja lucheвого diagnosta. *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2013;4:67–72. (in Russ.)
3. Jurkovskij AM, Achinovich SL, Kushnerov AI. Vozmozhnosti sonografii v ocenke vyrazhennosti distroficheskikh izmenenij podvzdoshno-pojasnichnoj svjazki: sonograficheskie i gistologicheskie sopostavlenija (in vitro). *Voennaja medicina*. 2014;4:66–69. (in Russ.)
4. Mihajlov AN, Jurkovskij AM, Achinovich SL. Vozmozhnosti sonografii v ocenke vyrazhennosti distroficheskikh izmenenij zadnej dlinnoj krestcovo-podvzdoshnoj svjazki: sonograficheskie i gistologicheskie sopostavlenija (in vitro). *Izvestija NAN Belarusi (serija medicinskih nauk)*. 2014;4:9–13. (in Russ.)
5. Jurkovskij AM, Anikeev OI, Achinovich SL. Distroficheskie izmenenija krestcovo-bugornoj svjazki: sonograficheskie i gistologicheskie paralleli (in vitro). *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2015;3:33–37. (in Russ.)
6. Jurkovskij AM, Achinovich SL. Diagnosticheskaja znachimost' morfometricheskikh pokazatelej kletok fibroblasticheskogo differona pri ocenke vyrazhennosti distroficheskikh izmenenij podvzdoshno-pojasnichnyh svjazok. *Problemy zdorov'ja i jekologii*. 2014;1:102–107. (in Russ.)
7. Sapozhnikova AG, Dorosevich AE. Gistologicheskaja i mikroskopicheskaja tehnika: rukovodstvo. Smolensk, RF; 2013. 467 p. (in Russ.)

Поступила 04.05.2018

УДК 577.112.825:612.112.91

### ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕФИЦИТОМ ИММУНОГЛОБУЛИНА А

К. С. Макеева<sup>1</sup>, И. А. Новикова<sup>1</sup>, А. П. Саливончик<sup>2</sup>, Н. М. Плотникова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение

«Республиканский научно-практический центр

радиационной медицины и экологии человека»,

г. Гомель, Республика Беларусь

**Цель:** оценить функциональные свойства нейтрофилов у пациентов с дефицитом иммуноглобулина А (IgA).

**Материалы и методы.** Изучался функциональный статус нейтрофилов (поглотительная активность клеток, их способность к образованию активных форм кислорода и формированию внеклеточных сетей) у 58 пациентов (33 женщины, 25 мужчин) с подтвержденным диагнозом парциального дефицита IgA (38 человек) и общей вариабельной иммунной недостаточности (20 человек) со сниженным содержанием IgA и IgG.

**Результаты.** У пациентов с дефицитом IgA, повышена кислород-зависимая способность нейтрофилов крови к формированию экстрацеллюлярных сетей. Максимальная степень увеличения показателей нетоза отмечается у пациентов с более низким значением IgA (менее 0,3 г/л).

**Заключение.** У пациентов с дефектом продукции IgA имеются нарушения функциональных свойств нейтрофилов крови в виде активации их способности к образованию экстрацеллюлярных сетей. Данный факт может быть одной из предпосылок повышенной склонности пациентов к формированию аутоиммунной патологии.

**Ключевые слова:** нейтрофил, нейтрофильные внеклеточные ловушки, нетоз, иммунодефицит, иммуноглобулин А.