

На правах рукописи



Ломановская Татьяна Александровна

**Компьютерный морфоденситометрический анализ эритроцитов при
гипервитаминозе А**

03.03.04. – Клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Боронихина Татьяна Владимировна

Официальные оппоненты:

Дубовая Татьяна Клеониковна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии лечебного факультета, профессор кафедры

Трахтман Павел Евгеньевич., доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение трансфузиологии, заготовки и процессинга гемопоэтических стволовых клеток, заведующий отделением

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 20 » июня 2022 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.01 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу:

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « » 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Блинова Екатерина Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Витамин А (ретинол), а также его естественные и синтетические аналоги (ретиноиды), обладающие широким спектром биологических свойств [Ноздрин В.И., Волков Ю.Т., 1995; Abed M., 2017; Berbis P., 2009; Edem D.O., 2009], применяются в клинической практике с целью коррекции нарушений, возникающих при их недостатке в организме, используются в качестве канцеропротекторных и иммуномодулирующих средств, при лечении некоторых форм лейкозов и наиболее широко – в дерматологии [Коколина В.Ф. и соавт., 2007; Мордовцев и соавт., 2014; Рыбалкина Т.С., Альбанова В.И., 2011; Berbis P., 2009; De Oliveira M.R., 2015]. В зависимости от дозы и продолжительности использования ретиноиды могут оказывать токсическое действие на организм способствуя развитию гипервитаминоза А. Проявления острой и хронической токсичности ретиноидов изучены и описаны достаточно подробно [Alarcyn-Corredor O.M., 2006; Allen L.H., Haskell M., 2002; Edem D.O., 2009; Penniston K.L., Tanumihardjo S.A., 2006]. Вместе с тем показано, что ретинол в повышенных дозах может оказывать негативное воздействие на клетки и ткани организма до появления клинических признаков гипервитаминоза А [Johansson S., 2002; Lind P.M. et al., 2006; Lind T. et al., 2018]. В связи с этим актуальным является поиск методов прогноза развития данного состояния при лечении больных. Своевременная диагностика доклинической (субтоксической) стадии гипервитаминоза А востребована также при исследовании новых лекарственных веществ, создаваемых на основе ретиноидов.

Обладая липофильными свойствами, биологически активные формы витамина А являются мембранотропными соединениями [Ноздрин В.И., Волков Ю.Т., 1995; De Oliveira M.R., 2015]. При исследовании цитотоксичности мембранотропных ксенобиотиков в качестве модели часто используются эритроциты [Farag M. R., Alagawany M., 2018], обладающие способностью к обратимой деформации, что определяется, в частности, состоянием цитоскелета и вязкоупругими свойствами их мембраны [Parrow N.L. et al., 2018; Asaro R.J., Zhu Q., 2020]. Под влиянием ксенобиотиков эта способность, как правило, меняется, следствием чего могут быть изменение размера, формы и других характеристик эритроцитов [Abed M. et al., 2017; Chen M., Boyle F.J., 2017; Park H. et al., 2016; Renoux C. et al., 2019].

В связи с этим актуальной задачей представлялось изучение характера и степени выраженности морфофункциональных изменений эритроцитов, возникающих в ответ на введение в организм ретинола, и выбор критериев, позволяющих прогнозировать развитие

эффектов его токсического действия на организм.

Степень разработанности темы исследования

Исследования морфологических изменений эритроцитов под действием ретиноидов немногочисленны, выполнены *in vitro* либо в условиях парентерального введения и в определенной мере устарели [Glauert A. M. et al., 1963; Martin J., Murphy Jr., 1973; Михайлов О.И., 1997; Яцковский А. Н., Анашкина Е. А., 2002]. Помимо ограниченного объема информации эти исследования не позволяют в полной мере судить о морфофункциональном состоянии эритроцитов в условиях естественного поступления в организм витамина А через желудочно-кишечный тракт с последующим его метаболизированием в печени [D'Ambrosio D.N., 2011]. Отсутствуют данные о результатах МДМ анализа эритроцитов при передозировке ретинола, не проанализирована степень выраженности морфологических изменений эритроцитов в динамике развития гипервитаминоза А, не изучена возможность влияния на эритроциты компонентов МО, используемой для растворения ретинола или его эфиров.

Цель исследования – провести компьютерный морфоденситометрический анализ эритроцитов при экспериментальном гипервитаминозе А.

Задачи исследования:

1. Оценить состав эритрона периферической крови интактных крыс и сравнить МДМ параметры в субпопуляциях дискоцитов.
2. Обосновать наличие либо отсутствие морфологических изменений эритроцитов при потреблении крысами МО, используемой для приготовления раствора РП.
3. Подобрать дозу РП, позволяющую за относительно короткий период времени вызвать у крыс состояние гипервитаминоза А.
4. Проанализировать характер морфологических изменений эритроцитов при использовании различных доз РП.
5. Изучить динамику изменений МДМ параметров эритроцитов при передозировке РП и оценить их диагностическую значимость для прогноза возникновения гипервитаминоза А.

Научная новизна работы

В результате проведенного исследования впервые:

- получены данные о характере и динамике морфологических изменений эритроцитов в условиях гипервитаминоза А, смоделиированного у крыс передозировкой РП;
- на основе сопоставления динамики развития гипервитаминоза А с динамикой морфологических изменений эритроцитов выявлены их МДМ параметры, меняющиеся до появления признаков передозировки РП;

- дана сравнительная оценка информативности изменений МДМ параметров эритроцитов крыс при использовании избыточных доз РП;
- изучен характер изменений эритроцитов при ежедневном введении крысам рег ос МО, используемой для приготовления растворов РП;
- охарактеризованы различия МДМ параметров в субпопуляциях дискоцитов интактных крыс.

Теоретическая и практическая значимость работы

Обоснована эффективность использования компьютерной морфоденситометрии для оценки неспецифических морфологических изменений эритроцитов при гипервитаминозе А. Показано, что на основе анализа МДМ параметров дискоцитов возможен прогноз возникновения и оценка степени тяжести гипервитаминоза А.

В качестве прогностических критериев передозировки РП предложен перечень информативных признаков, характеризующих морфологические изменения эритроцитов. Использование этих критериев при проведении аналогичных экспериментальных исследований позволит ограничить число анализируемых МДМ параметров и сократить время объективной оценки состояния эритроцитов.

Охарактеризованы морфологические изменения эритроцитов крыс при введении рег ос смеси рапсового масла с антиоксидантами БОТ и БОА. Тем самым обоснована необходимость использовать при изучении эффектов биологически активных форм витамина А в качестве группы сравнения животных, получающих МО, применяемую для растворения субстанции ретинола или его эфиров.

Выявлены различия МДМ параметров в субпопуляциях дискоцитов интактных животных. Установлено, что соотношение истинные дискоциты/дискосферациты в периферической крови меняется при передозировке РП. Предложено при оценке состояния эритрона в экспериментальных и клинических исследованиях учитывать в качестве критериев не только количество типичных и атипичных форм эритроцитов, но также оценивать объем и соотношение субпопуляций дискоцитов.

Методология и методы исследования

В работе использован способ автоматизированного количественного анализа изображений, позволяющий измерить комплекс геометрических и оптических параметров эритроцитов (дискоцитов) периферической крови и получить интегральную оценку их морфологической и функциональной сохранности. Применительно к цели и задачам настоящей работы подобная методика исследования эритроцитов использована впервые, что дало возможность количественно оценить ранние проявления реакции эритроцитов на воздействие и рекомендовать эти показатели в качестве прогностических критериев развития гипервитаминоза А.

Положения, выносимые на защиту:

1. У интактных крыс вариабельность геометрических и оптических параметров дискоцитов обусловлена неоднородностью их популяции, включающей субпопуляции истинных дискоцитов и дискосферацитов. МДМ параметры дискоцитов двух субпопуляций имеют значимые различия.

2. Ежедневное потребление крысами МО (рапсовое масло с антиоксидантами БОТ и БОА) в объемах, сопоставимых с объемом раствора РП, используемого для достижения необходимой дозы, ведет к изменениям МДМ параметров дискоцитов, которые в совокупности указывают на возрастание газотранспортной и газообменной функций эритроцитов.

3. При передозировке РП МДМ параметры дискоцитов изменяются в зависимости от дозы и продолжительности использования препарата, при этом увеличивается объем субпопуляции дискосферацитов и нарастает число атипичных форм эритроцитов. Время возникновения признаков неспецифических морфологических изменений эритроцитов при передозировке РП неодинаково. Оценка информативности таких признаков позволяет отобрать наиболее диагностически значимые и использовать их для прогноза возникновения и динамики развития гипервитаминоза А.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным количеством наблюдений (число животных, число клеток), рассчитанным при планировании эксперимента, а также использованием методов исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы фактическими данными, проанализированными с использованием адекватных методов статистического анализа и представленными в виде таблиц и рисунков.

Результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на: X Конгрессе международной ассоциации морфологов, Ярославль, 2010 г. (доклад и стеновое сообщение); 8-й Всероссийской научной конференции «Бабухинские чтения в Орле», 2011 г. (доклад); XI Конгрессе международной ассоциации морфологов, Самара, 2012 г. (стеновое сообщение); 9-й Всероссийской научной конференции «Бабухинские чтения в Орле», 2015 г. (стеновое сообщение); 10-й Международной научной конференции «Бабухинские чтения в Орле», 2017 г. (доклад); XIV Конгрессе международной ассоциации морфологов, Астрахань, 2018 г. (стеновое сообщение); VIII Российском съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов, Воронеж, 2019 г. (доклад); XV Конгрессе международной ассоциации

морфологов, Ханты-Мансийск, 2020 г. (стендовое сообщение); заседании научного отдела АО «Ретиноиды», научных конференциях кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Внедрение в практику результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии медицинского института ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», используются в научно-практической работе АО «Ретиноиды».

Личный вклад автора в выполнение работы

Диссидентом выполнена экспериментальная часть исследования, в ходе которой была подобрана доза РП, оптимальная для моделирования гипервитаминоза А, реализованы все этапы забора и подготовки материала для микроскопического анализа. Проведен МДМ анализ эритроцитов в контрольных и экспериментальных группах животных, выполнена статистическая обработка полученных данных, проанализированы и обобщены результаты исследования. Проведен анализ и отбор отечественной и мировой литературы по теме исследования. Подготовлены лично и в соавторстве публикации по материалам проведенного исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Основные научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология, а именно областям исследования согласно пунктам 5 и 7.

Публикации по теме диссертационной работы

По результатам исследования автором опубликовано 16 печатных работ, в том числе 3 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; из них 1 статья в изданиях, индексируемых в международных базах (Scopus), 3 иные публикации по результатам исследования, 10 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, 41 рисунок и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 317 источников, в том числе 49 отечественных и 268 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Экспериментальные животные. Работа выполнена на крысах самцах Вистар, полученных из филиала ГУ НЦ биомедицинских технологий РАМН «Столбовая» и выдержаных в карантине в течение одной недели до начала экспериментов. Содержание и манипуляции с животными осуществлялись согласно Правилам надлежащей лабораторной практики (Приказ Минздрава РФ №199н от 01.04. 2016 г.) и в соответствии с решением локального этического комитета (протокол № 02-20 от 05.02.2020). Проведено две серии экспериментов. В первой серии отрабатывали модель гипервитаминоза А и оценивали реакцию эритроцитов на введение РП, во второй – анализировали динамику морфологических изменений эритроцитов и сравнивали информативность МДМ параметров, меняющихся в условиях избытка РП. Исходная масса тела крыс в первом эксперименте составила $128,3 \pm 2,5$ г, а во втором – $120 \pm 2,6$ г. Количество животных и их распределение по сериям экспериментов и группам указано в таблице 1.

Таблица – 1 Распределение животных по сериям экспериментов и по группам

| Серии экспериментов | Группы крыс | Количество животных, использованных для анализа | | | |
|---------------------|----------------|---|--------------|-------------------|---------|
| | | всего | мазков крови | гистологии печени | |
| | | | | 7 день | 11 день |
| № 1 | интактные | 6 | 6 | - | 3 |
| | МО | 6 | 6 | - | 3 |
| | РП - 0,41 мг/г | 6 | 6 | - | 3 |
| | РП - 0,64 мг/г | 6 | - | - | - |
| | РП – 0,82 мг/г | 6 | 6 | - | 3 |
| № 2 | интактные | 6 | 6 | - | - |
| | МО | 12 | 6 | 3 | 3 |
| | РП - 0,64 мг/г | 12 | 6 | 3 | 3 |
| Всего: | | 60 | 42 | 6 | 18 |

Моделирование гипервитаминоза А. В качестве источника витамина А использовали масляные растворы РП. Вспомогательными веществами этих растворов являлись рапсовое масло и антиоксиданты – по 0,1 мг БОТ и БОА на 100 мл масла (МО). Растворы РП и МО были приготовлены и предоставлены сотрудниками АО «Ретиноиды». Крысам экспериментальных групп в течение 10 дней вводили per os растворов РП в объемах, соответствующих дозам, указанным в таблице 1. Контролем служили интактные животные и крысы группы сравнения, получавшие per os МО в тех же объемах, что и РП. Динамику развития токсических эффектов РП оценивали по изменениям массы тела и по наличию характерных симптомов гипервитаминоза А и степени их выраженности в баллах (0 – отсутствует, 1 – умеренно выражен, 2 – сильно выражен). По результатам

оценки рассчитывали индекс гипервитаминоза А (средний балл по группе за день / средний балл по группе за все дни наблюдения).

Приготовление мазков крови. Кровь для изготовления мазков получали из прокола вены хвоста крыс стерильным скарификатором с глубиной прокола 2,0 мм. После высушивания мазки фиксировали 15 мин в 96% этаноле. Мазки крови экспериментальных и контрольных животных окрашивали одновременно раствором Лейшмана (эозин - метиленовый синий) по схеме: концентрированный р-р красителя – 2 мин., концентрированный р-р красителя + дистиллированная вода 1:2 – 10 мин., дистиллированная вода – 5 мин.

Таблица – 2 Перечень измеренных МДМ параметров дискоцитов

| Обозначение | Название |
|---|---|
| Стандартные геометрические и оптические параметры | |
| 1. Area | площадь проекции на плоскость |
| 2. Pallor | площадь пэллора * |
| 3. Pallor/Area | отношение площади пэллора к площади проекции |
| 4. FF | форм-фактор |
| 5. OD | средняя оптическая плотность |
| 6. IOD | интегральная оптическая плотность |
| Параметры профиля | |
| 7. Bend | точка перегиба тор-пэллор |
| 8. Radius | радиус |
| 9. Grad1 | градиент оптической плотности восходящей части тора * |
| 10. Grad2 | градиент оптической плотности нисходящей части тора |
| 11. Grad3 | градиент оптической плотности пэллора |
| 12. Cur1 | кривизна восходящей части тора |
| 13. Cur2 | кривизна нисходящей части тора |
| 14. Cur3 | кривизна пэллора |
| 15. G1/G2 | отношение Grad1 к Grad2 |
| 16. Dy | показатель контрастности |
| 17. Dx | показатель асимметрии |
| 18. L_er | длина профиля по линии сканирования |
| 19. Surface | площадь поверхности |
| 20. Volume | объем |
| 21. Surface/Volume | отношение площади поверхности к объему |

* пэллор – центральный вогнутый участок дискоцита, тор – периферический выпуклый участок дискоцита

Морфометрия мазков крови. В мазках крови под иммерсией (объектив $\times 90$, окуляр $\times 10$) определяли долю дискоцитов (в т.ч. истинных дискоцитов и дискосферицитов), сферицитов, эхиноцитов, стоматоцитов и других форм эритроцитов из расчета на 200 клеток. Для оценки стандартных геометрических и оптических параметров дискоцитов, а также параметров их профиля (таблица 2) использовали метод компьютерной

морфоденситометрии, реализуемый в автоматизированной системе анализа изображений DiaMorph Cito (ЗАО «ДиаМорф»). У каждого животного при увеличении $\times 90$ (иммерсия) регистрировали параметры не менее чем 30 дискоцитов, расположенных в соседних полях зрения центрального участка мазка крови. По результатам измерений, используя приложение IPSO (ЗАО «ДиаМорф»), выполняли компьютерную реконструкцию 3D профиля дискоцитов.

Гистологические исследования. Сравнивали гистоструктуру печени животных контрольных и экспериментальных групп на 7 и 11 дни наблюдения. Образцы печени, вырезанные из идентичных участков органа, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина на фосфатном буфере (pH 7,4) и заливали в парафин. Срезы толщиной 6-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Статистический анализ проводили с помощью прикладных программ IBM PASW Statistics v.18.0 и Microsoft Office Excel. В анализируемых выборках для абсолютных количественных показателей вычисляли значения среднего арифметического, предельную ошибку и доверительный интервал. Гипотезы о нормальном распределении признаков и о равенстве дисперсий в большинстве выборок не были подтверждены. Оценку значимости различий средних арифметических осуществляли с помощью непараметрических методов статистики. Для попарного сравнения частот, долей и отношений использовали тест χ^2 . В необходимых случаях для оценки результатов исследования применяли корреляционный, регрессионный и дискриминантный анализ. Диагностическую значимость изменений дискоцитов при гипервитаминозе А оценивали по критерию информативности Кульбака. Во всех процедурах статистического анализа доверительная вероятность различий принималась на уровне $p \leq 0,05$.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Состав эритрона периферической крови и субпопуляции дискоцитов у интактных крыс. У интактных крыс ($n=23$) доля эритроцитов типичной формы – дискоцитов составляет $87,6 \pm 1,3\%$. Из атипичных форм эритроцитов преобладают сфеноциты – $7,8 \pm 1,1\%$, доля эхиноцитов – $2,2 \pm 0,6\%$, стоматоцитов – $1,6 \pm 0,5\%$. Доля иных атипичных клеток (овалоцитов, кокоцитов и проч.) минимальна – $0,8 \pm 0,4\%$. Подобное соотношение типичных и атипичных форм эритроцитов характерно для большинства млекопитающих и отражает возникающую в конце жизненного цикла эритроцитов трансформацию дискоцитов в сфеноциты путем везикуляции (дискоцит-эхиноцит-сфеноцит) либо кренирования (дискоцит-стоматоцит-сфеноцит) [Badior K.E.,

Casey J.R., 2018; Svetina S., 2012].

МДМ параметры дискоцитов характеризуются выраженной дисперсией. Коэффициенты вариации большинства ПП дискоцитов превышают критическое значение в 33%, что указывает на неоднородность их популяции. С целью уточнения критериев неоднородности популяцию дискоцитов ($n=761$) разделили по медиане переменной Pallor/Area на две группы (субпопуляции). Установлено, что среднее значение Pallor отличается в группах более чем в полтора раза (8.94 ± 0.17 и 4.96 ± 0.15). В эритроцитах с большими значениями Pallor отношение Pallor/Area $> 25\%$ – такие эритроциты отнесены к субпопуляции «истинных дискоцитов». У остальных дискоцитов это отношение $\leq 25\%$ – эти эритроциты отнесены к субпопуляции «дискосферацитов». Последние, в сравнении с истинными дискоцитами, характеризуются более высокими значениями OD, IOD, Cur1 и меньшими значениями Cur2 и Cur3. Значения Volume у дискосферацитов выше, что при практически не меняющейся Surface определяет более низкое отношение Surface/Volume в этой субпопуляции.

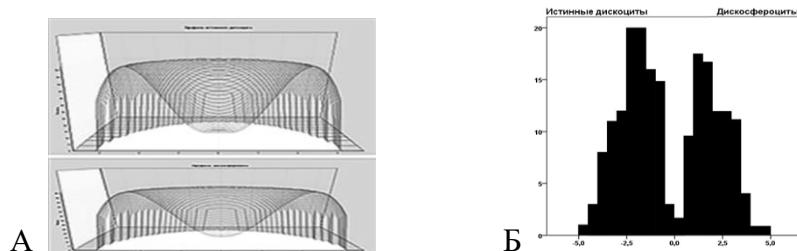


Рисунок – 1 Реконструкция среднего 3D профиля (А) и распределение значений дискриминантной функции (Б) в субпопуляциях «истинные дискоциты» и «дискосферациты».

Различия МДМ параметров в субпопуляциях дискоцитов отражаются на форме клеток, что наглядно демонстрируют результаты компьютерной реконструкции их трехмерного профиля (рис. 1А). У дискоцитов с меньшим значением Pallor профиль поверхности, вследствие изменения кривизны его различных участков, становится менее вогнутым и приобретает тенденцию к трансформации в сфераобразный. При дискриминантном анализе МДМ параметров дискоцитов в сформированных группах выявлен бимодальный характер их распределения (рис. 1Б). Адекватность отнесения дискоцитов двух выборок к соответствующей субпопуляции подтверждали значимость отличий средних значений дискриминантной функции в обеих группах = 0,001, а также достигнутая точность прогнозирования = 97,7%.

Старение эритроцитов сопровождается накоплением продуктов перекисного окисления, модификацией гемоглобина, нарушением связей цитоскелета с липидным

бислоем плазмолеммы, утратой способности к обратимой деформации. Снижающееся при этом отношение площади поверхности к объему ведет к постепенному изменению дисковидной формы эритроцитов на сферацитарную [Bador K.E., Casey J.R., 2018; Bosman G.J. et al., 2010; Franco et al., 2013; Lutz H.U., Bogdanova A. 2013]. Выявленная в работе неоднородность популяции дискоцитов вероятно связана с изменениями, возникающими на протяжении жизненного цикла клеток. Дискосферациты, имеющие в сравнении с истинными дискоцитами более высокую оптическую плотность цитоплазмы и меньшее соотношение Surface/Volume, следует предположительно рассматривать как начальную фазу физиологической трансформации дискоцитов в сферациты – терминальную стадию возрастных преобразований эритроцитов.

Морфология эритроцитов крыс, получавших масляную основу раствора ретинола пальмитата. Сравнивали соотношение различных форм эритроцитов и сопоставляли соответствующие МДМ параметры дискоцитов у крыс, потреблявших в течение 10 дней МО, и у интактных крыс. В течение первой недели наблюдения значимых различий в содержании разных форм эритроцитов у животных двух групп не выявлено. С 7 дня и до конца опыта соотношение истинных дискоцитов и дискосферацитов у крыс, получавших МО, менялось в сторону увеличения доли последних ($p < 0,01$). При этом общее количество дискоцитов у интактных крыс и у животных, потреблявших МО, оставалось практически одинаковым. Число атипичных форм эритроцитов было невелико. Различия в содержании сферацитов были зафиксированы лишь к 11 дню наблюдения ($p < 0,03$).

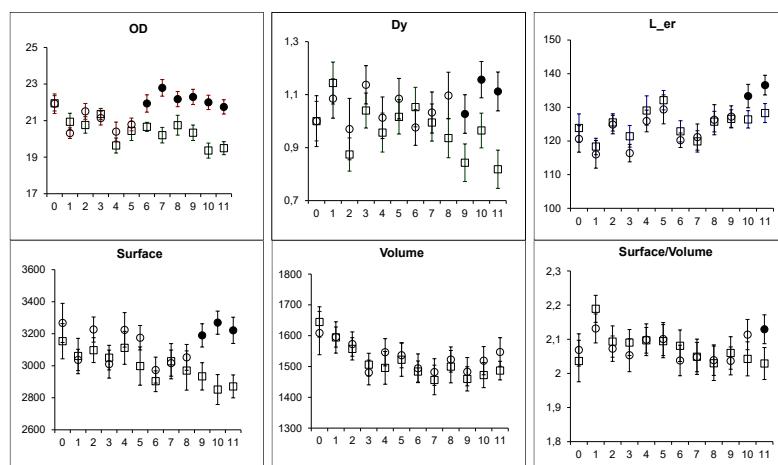


Рисунок – 2 Средние значения и доверительные интервалы (вертикальные отрезки) МДМ параметров дискоцитов у интактных крыс (прямоугольники) и у крыс, получавших МО (окружности). Маркеры с заливкой указывают на значимые различия между группами ($p = 0,03 \div 0,001$). Ось абсцисс – дни наблюдения: день 0 – начало введения МО, день 10 – последнее введение МО. Ось ординат – условные единицы измерения.

Изменения МДМ параметров дискоцитов у крыс, потреблявших МО, возникали с конца первой недели наблюдения в определенной последовательности (Рисунок 2). С 6 дня после начала введения МО значимо возрастали OD и IOD цитоплазмы клеток. Оптическая плотность цитоплазмы является косвенным показателем содержания гемоглобина в эритроцитах [Mohandas N., Gallagher P.G., 2008]. Увеличение оптических характеристик дискоцитов при потреблении МО можно предположительно рассматривать как результат воздействия токоферола, присутствующего в рапсовом масле [Matthaus B. et al., 2016], на процесс синтеза гемоглобина в эритробластах путем контроля биосинтеза гема [Van Doormaal J.J. et al., 1988].

Различия значений некоторых ПП дискоцитов в сравниваемых группах начали проявляться на 9-11 сутки. У крыс, потреблявших МО, увеличивались средние значения Grad1, Grad2 и снижались значения Grad3. Возрастала величина Dy, Cur2 и L_er. В результате изменения длины профиля дискоцитов их Surface увеличивалась. Поскольку Volume дискоцитов оставался практически неизменным, соотношение Surface/Volume в итоге возросло к 11 дню наблюдения. В основе флюктуаций геометрических характеристик эритроцитов на фоне перорального введения МО лежат изменения липидного бислоя плазмолеммы. Входящее в состав МО рапсовое масло богато ненасыщенными жирными кислотами [Garcia-Aloy M. et al., 2019], при употреблении которых их содержание в эритроцитарной мембране возрастает, а ее микровязкость и текучесть меняются [Hals P.A. et al., 2017; Chen C. et al., 2020]. Это отражается не только на морфологии, но и на возможности эритроцитов обеспечивать газообмен, который зависит от величины таких геометрических параметров как Surface, Volume и Surface/Volume [Park H. et al., 2016; Renoux C. et al., 2019]. Определенный вклад в изменение функционального состояния эритроцитов при потреблении МО могут вносить также присутствующие в ее составе БОТ и БОА, которые ингибируют окисление липидов и снижают образование активных форм кислорода, что в целом улучшает реологические свойства и проницаемость эритроцитарной мембранны [Li H. et al., 2016; Yehye W.A., 2015; Sánchez-Gallego J.I. et al., 2011].

В отличие от эффектов РП (см. ниже), потребление МО не оказывает выраженного токсического действия на эритроциты. Ограниченные по объему изменения формы эритроцитов, происходящие на фоне введения МО, скорее способствуют повышению их газотранспортной и газообменной функций. На это указывают возникающие в данных условиях увеличение оптической плотности цитоплазмы (содержания в ней гемоглобина), а также увеличение Surface и ее соотношения с Volume дискоцитов.

Моделирование гипервитаминоза А у крыс. Ежедневное пероральное введение крысам с массой тела 120-130 г масляного раствора РП в дозах 0,41 мг/г 0,64 мг/г и 0,82 мг/г, привело к довольно быстрому (в течение 5-6 дней) появлению признаков его передозировки. Симптомы токсического действия ретинола в целом соответствовали имеющимся описаниям [Alarcyn-Corredor O.V., 2006; Karar P.K. et al., 2002; Penniston K.L., Tanumihardjo Sh.A., 2006].

При одинаковой симптоматике во всех экспериментальных группах животных время возникновения, динамика развития и степень тяжести гипервитаминоза А ожидали зависели от дозы. При введении РП в дозах 0,64 мг/г и 0,82 мг/г начальные признаки гипервитаминоза А (снижение двигательной активности, изменение дыхания, анорексия, прекращение прироста массы тела), а позже и признаки подострого токсического действия витамина А (алопеция, эритемы и геморрагии, ослизнение кала и диарея, искривление и ограничение подвижности конечностей) возникали на 1-3 дня раньше, чем при дозе 0,41 мг/г. При дозе 0,41 мг/г проявления гипервитаминоза А имели менее выраженный характер и к концу эксперимента отмечались не у всех животных данной группы. По степени выраженности симптомов в соответствующие дни наблюдения степень тяжести гипервитаминоза А при дозе 0,64 мг/г была меньшей, чем при дозе 0,82 мг/г. При использовании дозы 0,82 мг/г имела место гибель крыс. Подтверждением токсического действия РП служили также признаки дистрофии гепатоцитов, расположенных в перипортальных зонах печеночных долек, выявленные на 11-й день опыта. При дозе РП 0,41 мг/г и 0,64 мг/г подобные изменения были локальными, а у животных, получавших ретинола пальмитат в дозе 0,82 мг/г, имели более генерализованный характер.

Полученные данные явились основанием использовать при анализе динамики морфологических изменений эритроцитов дозу РП, не вызывающую гибели животных и одновременно обеспечивающую развитие гипервитаминоза А в течение достаточно короткого периода времени у всех животных экспериментальной группы (0,64 мг/г).

Характер и возможные причины изменений эритроцитов при передозировке ретинола пальмитата. Морфология эритроцитов была проанализирована у крыс, получавших РП в минимальной (0,41 мг/г) и максимальной (0,82 мг/г) дозах. Анализ производили на 7-й день опыта, когда признаки гипервитаминоза А только начали появляться у крыс, получавших РП в дозе 0,41 мг/г, а при дозах 0,64 мг/г и 0,82 мг/г эти признаки уже были достаточно выражены. Соответствующие характеристики эритроцитов оценивали также в конце эксперимента на 11-й день.

У крыс, получавших РП, значительное число эритроцитов характеризовалось уменьшением и асимметричным расположением Pallor либо его отсутствием. В сравнении

с контролем, на 7-й и 11-й день отмечалось прогрессивное увеличение относительного содержания атипичных форм эритроцитов, снижение доли истинных дискоцитов и рост числа дискосферацитов. Среди атипичных форм превалировали стоматоциты и сферациты. Эти сдвиги происходили у всех экспериментальных животных, но были более выражены при дозе 0,82 мг/г.

Из результатов измерения МДМ параметров дискоцитов следует, что при передозировке РП геометрические и оптические характеристики эритроцитов меняются. Время возникновения и степень выраженности этих изменений также зависит от дозы РП и продолжительности его введения (Рисунок 3).

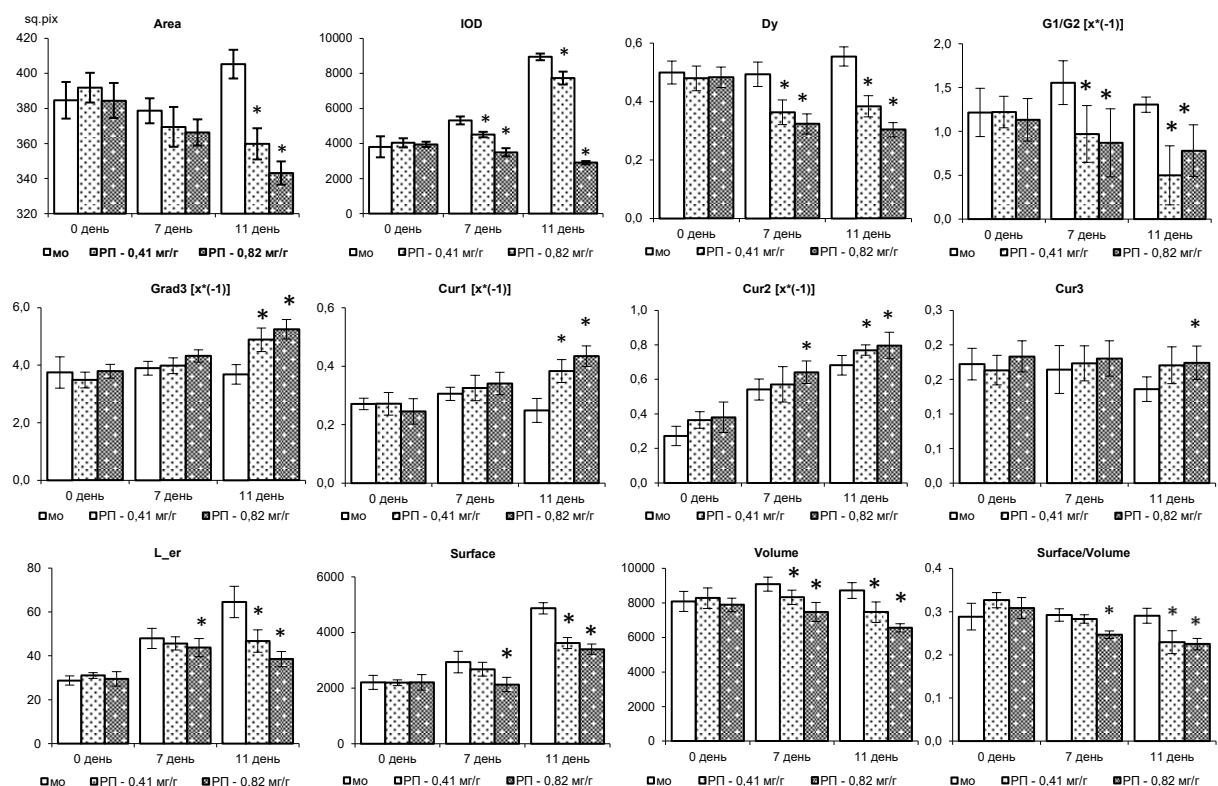


Рисунок – 3 Средние значения и доверительные интервалы (вертикальные отрезки) МДМ параметров дискоцитов у крыс, получавших МО и РП в разных дозах. Звездочками отмечены значимые различия с контролем ($p = 0,05 \div 0,001$). Ось ординат – условные единицы измерения.

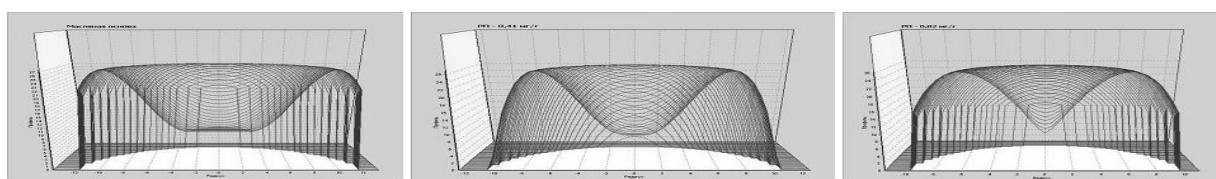


Рисунок – 4 Средний 3D профиль дискоцитов крыс, получавших МО (слева) и РП в дозах 0,41 мг/г (в центре) и 0,82 мг/г (справа). 11 день эксперимента.

Снижение дисперсии большинства МДМ параметров дискоцитов установленное у крыс экспериментальной группы свидетельствовало о стереотипном характере реакции эритроцитов на избыточное содержание РП в организме. В целом к концу эксперимента дискоциты экспериментальных животных в сравнении с контролем характеризовались меньшими значениями Area, OD, IOD, Dy, G1/G2. Одновременно наблюдалось увеличение Grad3 и Cur различных участков профиля дискоцитов. При потреблении РП значения Surface и Volume дискоцитов были меньше, чем в контроле. При этом снижение Surface оказалось более выраженным, вследствие чего отношение Surface/Volume в дискоцитах экспериментальных животных было ниже контрольных показателей. Результаты МДМ анализа свидетельствовали об изменении формы дискоцитов, что нашло подтверждение при компьютерной реконструкции 3D профиля (Рисунок 4) и явилось основанием предположить снижение их способности к обратимой деформации в условиях передозировки РП.

Изменение геометрических параметров дискоцитов, а также возрастающий атипизм эритроцитов при передозировке РП, свидетельствуют об изменении состояния их плазмолеммы. Показана возможность прямого действия витамина А на вязкоупругие свойства и текучесть мембраны эритроцитов и на их способность к обратимой деформации [Górnicki A., 2006; Radosinska, J. et al, 2016]. Последнее проявляется, в частности, в уменьшении отношения Surface/Volume [Pivkin I.V. et al., 2016]. Повышенный уровень витамина А в организме сопровождается дислипидемией [Jeyakumar S.M. et al., 2016; Prashanth A. et al., 2014], что, в свою очередь, отражается на составе и структуре липидного бислоя эритроцитарной мембраны [Abed M., 2017; Erturan I. et al., 2012]. Возможно также, что в условиях проведенного эксперимента вязкоупругие свойства эритроцитарной мембраны изменились в результате накопления в клетках свободных радикалов, продуктов перекисного окисления липидов и снижения активности внутриклеточных факторов антиоксидантной защиты. Подобная возможность продемонстрирована при потреблении витамина А в высоких дозах на примере эритроцитов [Han L. et al., 2004], клеток печени [Cha J.H., 2016] и легкого [Pasquali M.A. et al., 2009].

Снижение оптической плотности дискоцитов, возникающее при передозировке РП, свидетельствует о появлении в крови экспериментальных животных эритроцитов с меньшим, чем в контроле, содержанием гемоглобина. При использовании витамина А в повышенных дозах может иметь место его утрата эритроцитами вследствие изменения осмотического равновесия между цитоплазмой и плазмой крови [Dingle J.T., Lusy J.A., 1962; Jacob H.S., 1967; Karar P.K. et al., 2002]. Возможно уменьшение концентрации

гемоглобина в эритроцитах при гипервитаминозе А связано также с нарушением его синтеза. Витамин А влияет на биодоступность [Citelli M. et al., 2012] и метаболизм [Restrepo-Gallego M. et al., 2020] железа в организме. При приеме РП в повышенных дозах интенсивность включения железа в эритроциты [Davidsson L. et al., 2003] и активность эритропоеза [Perrotta S., 2002] снижаются.

Таким образом, токсическое действие РП на эритроциты проявляется в изменении их геометрии, обуславливающем уменьшение отношения площади поверхности к объему, а также в уменьшении оптической плотности цитоплазмы (содержания гемоглобина), что снижает газотранспортную и газообменную функции клеток.

Динамика и диагностическая значимость морфологических изменений эритроцитов при передозировке ретинола пальмитата. С целью выбора критериев прогноза передозировки РП сопоставляли динамику изменений эритроцитов при введении препарата в дозе 0,64 мг/г и хронологию возникновения и прогрессирования симптомов гипервитаминоза А (Рисунок 5). Симптоматика гипервитаминоза А и сроки ее возникновения соответствовали картине, наблюдавшейся в первом эксперименте. Масса тела крыс, получавших РП, снизилась на 5 день наблюдения и в последующем оставалась ниже показателей в контрольных группах. Между 5 и 7 днем введения РП отмечалось снижение двигательной активности, изменение дыхания и шерстного покрова. После 7 суток у отдельных животных, а к 11 – практически у всех, появились симптомы подострого токсического действия РП – ослизнение кала с последующей диареей, геморрагии, алопеция, искривление конечностей и изменение походки. Прогрессивную тенденцию развития такой симптоматики отражает индекс динамики гипервитаминоза А.

Первым проявлением действия РП на эритроциты при его ежедневном потреблении животными явилось изменение ПП дискоцитов. Из пятнадцати измеренных параметров восемь (Grad1, Grad2, Grad3, Cur2, Dy, L_er, Surface, Volume) приобрели статистически значимые различия с контрольной группой за 1-2 дня до возникновения первых признаков гипервитаминоза А, то есть еще на доклинической стадии его развития. Остальные ПП, а также все СМДМП дискоцитов начинали изменяться лишь по мере развития гипервитаминоза А. Происходящее на этом фоне прогрессивное уменьшение доли дискоцитов в крови сопровождалось одновременным нарастанием доли сфeroцитов. Значимые отклонения доли стоматоцитов и эхиноцитов от показателей в контрольной группе обнаружились после восьмого введения РП, когда у животных уже возникли симптомы подострого токсического действия ретинола.

Информативность (диагностическую значимость) изменений параметров дискоцитов при введении РП оценивали по величине коэффициента Кульбака,

рассчитанного для признаков, распределения которых статистически значимо различались в экспериментальной и в контрольной группах. За признак принимали увеличение или уменьшение среднего значения конкретного МДМ параметра дискоцитов при передозировке РП в сравнении с контрольной группой в сопоставимые сроки наблюдения.

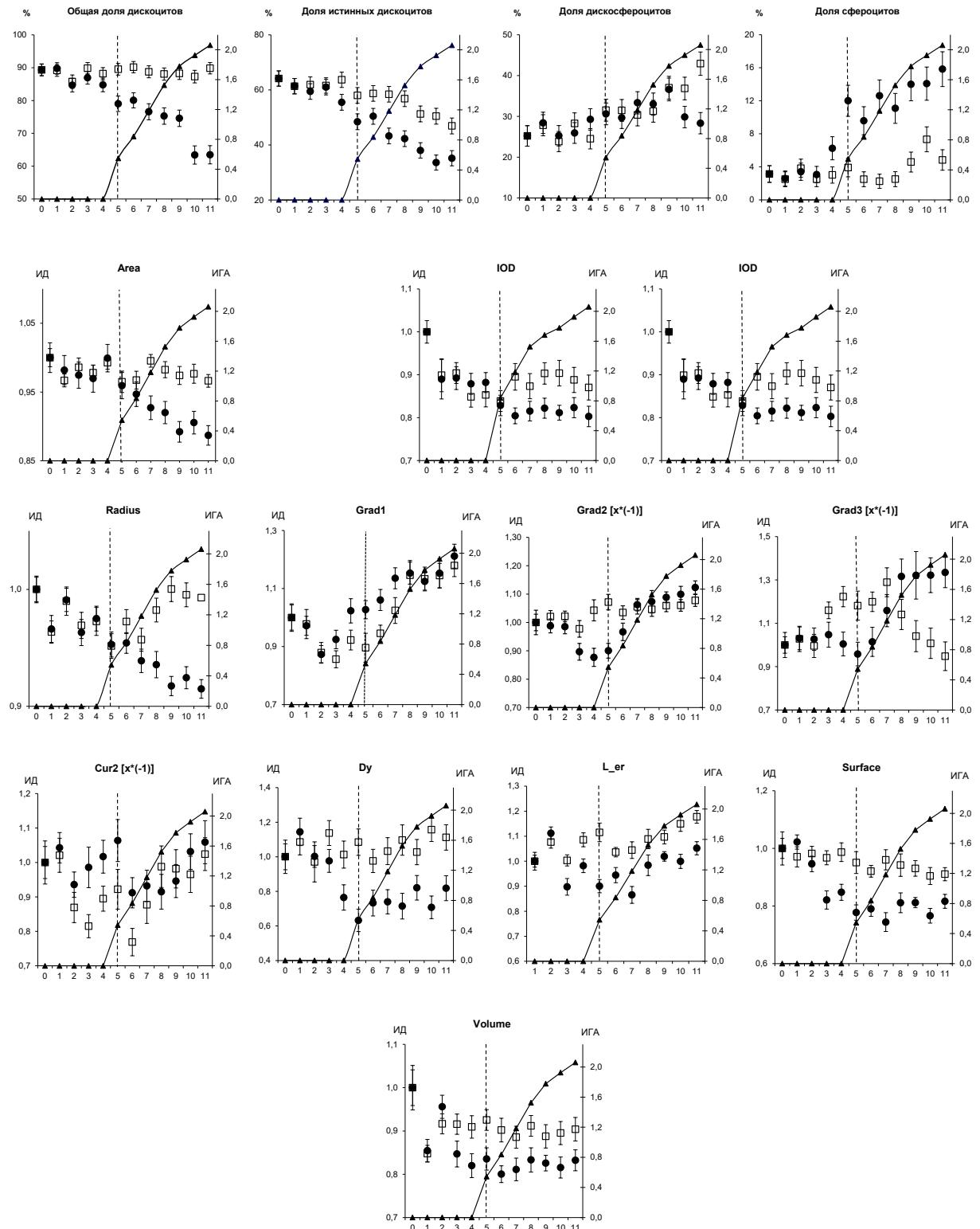


Рисунок 5. Индексы динамики (ИД) морфологических изменений эритроцитов крыс, получавших РП в дозе 0,64 мг/г (окружности) и МО (прямоугольники). Вертикальные отрезки – доверительные интервалы. Линия с треугольными маркерами – индекс гипервитаминоза А (ИГА). Ось абсцисс – дни наблюдения: день 0 – начало введения РП, день 10 – последнее введение РП. Вертикальная пунктирная линия – день регистрации первых симптомов гипервитаминоза А у животных.

Оценка информативности изменений этих параметров была проведена на 4 день опыта, когда у всех животных экспериментальной группы видимые симптомы гипервитаминоза А еще отсутствовали, а также на 7 день эксперимента, предшествующий возникновению у крыс выраженных токсических эффектов РП (таблице 3).

Таблица – 3 Коэффициенты информативности Кульбака (I) для признаков, указывающих на изменения морфологии эритроцитов крыс, получавших РП

| Признак | I | Значимость различий параметра между группами РП и МО |
|----------------------------|------------|--|
| 4-й день | | |
| Снижение Surface | 4,6 | 0,02 |
| Снижение Dy | 4,1 | 0,00 |
| Увеличение Cur2 | 4,1 | 0,00 |
| Снижение Grad1 | 0,3 | 0,02 |
| Снижение Grad2 | 0,0 | 0,00 |
| Снижение Grad3 | 0,0 | 0,00 |
| Снижение L_er | 0,0 | 0,01 |
| Снижение Volume | 0,0 | 0,01 |
| 7-й день | | |
| Снижение Area | 5,7 | 0,00 |
| Снижение Volume | 5,6 | 0,00 |
| Снижение Surface | 5,5 | 0,01 |
| Снижение Iod | 5,4 | 0,00 |
| Снижение Dy | 5,1 | 0,00 |
| Снижение L_er | 4,7 | 0,00 |
| Снижение Od | 4,2 | 0,02 |
| Снижение Grad1 | 3,8 | 0,00 |
| Увеличение доли сфеноцитов | 0,4 | 0,00 |
| Снижение доли дискоцитов | 0,0 | 0,00 |
| Увеличение Cur1 | 0,0 | 0,04 |
| Увеличение Cur3 | 0,0 | 0,05 |

Информативность признаков, предварительно рассматриваемых в качестве прогностических критериев передозировки РП (4-й день) была неодинакова. Более высокие коэффициенты Кульбака имели снижение средних значений Surface, Dy и

увеличение Cur2. Изменения остальных ПП, несмотря на их статистическую значимость, имели коэффициент информативности ниже допустимого уровня ($I \geq 0,5$). Следовательно, изменения Surface, Dy и Cur2 являются более чувствительными показателями состояния эритроцитов при передозировке РП. Поэтому использование данных параметров для прогноза возникновения гипервитаминоза А в эксперименте и, возможно, при приеме препаратов, содержащих РП, представляется более целесообразным, чем других МДМ параметров дискоцитов. Коэффициенты информативности, характеризующие изменения МДМ параметров дискоцитов накануне возникновения симптомов подострого токсического действия РП (7-й день), показывают, что для оценки степени тяжести состояния, являющегося следствием передозировки РП, можно использовать не только параметры профиля (Volume, Surface, Dy, L_er), но и стандартные МДМ параметры дискоцитов (Area, Iod, Od).

Необходимо отметить, что выявленные в работе изменения МДМ параметров эритроцитов при передозировке РП являются неспецифическими. В иных экспериментальных условиях аналогичные изменения морфологии эритроцитов могут не иметь диагностической значимости. Поэтому при оценке воздействия различных ксенобиотиков на эритроциты целесообразен расчет информативности их морфологических изменений с учетом характера и продолжительности воздействия, по результатам которого возможен отбор наиболее диагностически значимых признаков. Это позволит, помимо надежной диагностической оценки состояния эритроцитов, сократить количество их МДМ параметров, анализируемых в повторяющихся условиях эксперимента.

ВЫВОДЫ

1. При экспериментальном гипервитаминозе А, вызванном ежедневным введением per os масляного раствора ретинола пальмитата в дозах 0,41 мг/г, 0,64 мг/г и 0,82 мг/г, изменения морфологии эритроцитов одинаковы по направленности. Время возникновения и степень выраженности изменений зависят от дозы и продолжительности введения препарата.
2. При передозировке ретинола пальмитата наиболее рано, до появления видимых признаков гипервитаминоза А, возникают изменения параметров профиля дискоцитов – Grad1, Grad2, Grad3, Cur2, Dy, L_er, Surface, Volume. Изменения стандартных морфоденситометрических параметров дискоцитов, соотношения истинных дискоцитов и дискосферацитов, а также типичных и атипичных форм эритроцитов в

крови происходят одновременно с развивающимся гипервитаминозом А.

3. Наиболее информативными признаками, регистрируемыми до появления симптомов передозировки ретинола пальмитата, являются увеличение Cur2, снижение Surface и Dy дискоцитов. На фоне возникающих подострых токсических эффектов ретинола пальмитата высокие коэффициенты информативности имеют не только параметры профиля (в порядке убывания – Volume, Surface, Dy, L_er), но и стандартные морфоденситометрические параметры дискоцитов (в порядке убывания – Area, Iod, Od).

4. Масляная основа раствора ретинола пальмитата (низкоэруковое рапсовое масло с антиоксидантами бутилгидрокситолуолом и бутилгидроксианизолом) вызывает изменения морфоденситометрических параметров дискоцитов (оптической плотности цитоплазмы, площади поверхности и ее соотношения с объемом клеток) через неделю после начала ее введения per os в объемах, сопоставимых с объемом раствора ретинола пальмитата, используемого для достижения дозы 0,64 мг/г или 0,82 мг/г. Вектор изменений и степень их выраженности отличаются от эффектов, возникающих при пероральном введении раствора ретинола пальмитата.

5. Адекватной моделью, позволяющей в течение 1,5 недель вызвать состояние гипервитаминоза А, является ежедневное введение per os масляного раствора ретинола пальмитата крысам Вистар с массой тела 120-130 г в дозе 0,64 мг/г.

6. Вариабельность и бимодальный характер распределения морфоденситометрических параметров дискоцитов интактных крыс Вистар свидетельствуют о неоднородности их популяции. Принадлежность дискоцитов к разным субпопуляциям определяется отношением Pallor/Area, которое в истинных дискоцитах $> 25\%$, а в дискосферацитах $\leq 25\%$.

7. В выборке интактных крыс Вистар с массой тела 120-130 г суммарная доля дискоцитов в крови составляет $87,6 \pm 1,3\%$ (дискоцитов – $44,4 \pm 2,0\%$, дискосферацитов – $43,2 \pm 2,0\%$). Из атипичных форм эритроцитов преобладают сферациты – $7,8 \pm 1,1\%$. Доля эхиноцитов – $2,2 \pm 0,6\%$, стоматоцитов – $1,6 \pm 0,5\%$, других атипичных форм – $0,8 \pm 0,4\%$.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.) Сравнительная информативность морфоденситометрических параметров эритроцитов у крыс с гипервитаминозом А. /Боронихина Т.В., Минашкина Т.А., Яцковский А.Н. // Морфология (Материалы докладов

Х Конгресса международной ассоциации морфологов, 29-30 сентября 2010 г., Ярославль). – 2010. - Т. 137 № 4. - С. 40

2. **Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.)** Изменения формы эритроцитов крыс при введении ретинола пальмитата. Морфология, (Материалы докладов X Конгресса международной ассоциации морфологов, 29-30 сентября 2010 г., Ярославль). – 2010. – Т. 137 № 4. – С. 127

3. **Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.)** Морфологическая характеристика эритроцитов при экспериментальном гипервитаминозе А / Минашкина Т.А. // Морфология. – 2011. Т.139 № 2. – С. 41 – 44 [BAK, Scopus]

4. Минашкина Т.А. Морфология эритроцитов как показатель состояния гипервитаминоза А. / Минашкина Т.А., Боронихина Т.В., Яцковский А.Н. // Ретиноиды (альманах). – 2011. - Вып. 32. - С. 140–150

5. **Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.)** Профиль дискоцита как индикатор передозировки ретинола. / Минашкина Т.А., Боронихина Т.В., Яцковский А.Н. // Морфология (Материалы докладов XI Конгресса международной ассоциации морфологов, 29-31 мая 2012 г., Самара). – 2012. - № 3. - С. 103

6. **Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.)** Субпопуляции дискоцитов периферической крови крыс. / Яцковский А.Н., Минашкина Т.А., Боронихина Т.В./ Морфология (Материалы докладов XI Конгресса международной ассоциации морфологов, 29-31 мая 2012 г., Самара). – 2012. - № 3. - С. 187

7. **Минашкина Т.А. (Ломановская Т.А.)** Отношение Pallor/Area в эритроцитах крыс при гипервитаминозе А. / Минашкина Т.А., Боронихина Т.В., Петросян Э.А. Яцковский А.Н. // Морфология (Материалы докладов IX Всероссийской научной конференции «Бабухинские чтения в Орле» 3-4 июня 2015 г.). – 2015. - № 3. - С. 76

8. **Ломановская Т.А. (Ломановская Т.А.)** Прогноз передозировки ретинола пальмитата. / Ломановская Т.А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н. // Морфология (Материалы докладов X Международной научной конференции «Бабухинские чтения в Орле» 31 мая – 1 июня 2017 г.). – 2017. - №3. - С. 84

9. **Ломановская Т.А.** Адекватный контроль в экспериментах по моделированию гипервитаминоза А. / Яцковский А.Н., Ломановская Т.А., Боронихина Т.В. // Морфология (Материалы докладов XIV Конгресса Международной Ассоциации Морфологов. 19-22 сентября 2018 г., Астрахань). – 2018. - №3. С. 332

10. **Ломановская Т.А.** Эффект передозировки ретинола пальмитата на эритроциты крыс. / Ломановская Т.А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н. // Морфология (Материалы докладов VIII съезда научного медицинского общества анатомов, гистологов и

эмбриологов. 23-26 мая 2019 г., Воронеж). - 2019. - №2. - С. 180

11. **Ломановская Т.А.** Профиль нормоцитов меняется при передозировке ретинола пальмитата. /Ломановская Т.А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н. // Морфология (Материалы докладов XV конгресса международной ассоциации морфологов. 21-22 сентября 2020 г., г. Ханты-Мансийск). - 2020. № 2-3. С. 127

12. **Ломановская Т.А.** Изменения морфологии эритроцитов при передозировке ретинола пальмитата. /Ломановская Т.А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н. // Оперативная хирургия и клиническая анатомия. – 2020. - № 4(1). - С. 46-51

13. **Ломановская Т.А.** Изменения эритроцитов при экспериментальном гипервитаминозе А. /Аванесова Н.И., Бородин В.В., Гузев К.С., Иванова М.Е., Крючкова Н.С., Ломановская Т.А., Скребнева Е.Н., Хорошаев О.Е., Цуканов Е. Е., Ноздрин В.И. // Ретиноиды (альманах). – 2021. - Вып. 36. - С. 83-85.

14. **Ломановская Т. А.** Плазмолемма эритроцитов и ее изменения в течение жизни клеток /Боронихина Т. В., Ломановская Т. А., Яцковский А. Н. // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2021. – Т. 10 № 2. - С. 62-72

14. **Ломановская Т. А.** Влияние масляной основы раствора ретинола пальмитата на морфологию эритроцитов / Ломановская Т. А., Боронихина Т. В., Пьявченко Г.А., Яцковский А. Н. // **Морфологические ведомости.** – 2021. - Т. 29 № 3. - С. 48-54 [ВАК]

16. **Ломановская Т.А.** Оценка информативности морфологических изменений эритроцитов при гипервитаминозе А и выбор прогностических признаков его возникновения / Ломановская Т.А., Боронихина Т. В., Яцковский А. Н // **Клиническая и экспериментальная морфология.** – 2022. - Т. 11 № 1. - С. 73-78 [ВАК]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БОА бутилгидроксианизол

БОТ бутилгидрокситолуол

МДМ морфоденситометрия, морфоденситометрические

МО масляная основа

ПП параметры профиля

РП ретинола пальмитат

СМДМП стандартные морфоденситометрические параметры

Area площадь проекции на плоскость

Bend точка перегиба тор-пэллор *

Cur1 кривизна восходящей части тора

| | |
|----------------|---|
| Cur2 | кривизна нисходящей части тора |
| Cur3 | кривизна пэллора |
| Dx | показатель асимметрии |
| Dy | показатель контрастности |
| FF | форм-фактор |
| Grad1 | градиент оптической плотности восходящей части тора |
| Grad2 | градиент оптической плотности нисходящей части тора |
| Grad3 | градиент оптической плотности пэллора |
| G1/G2 | отношение Grad1 к Grad2 |
| IOD | интегральная оптическая плотность |
| L_er | длина профиля по линии сканирования |
| OD | средняя оптическая плотность |
| Pallor | площадь пэллора |
| Pallor/Area | отношение площади пэллора к площади проекции |
| Radius | радиус |
| Surface | площадь поверхности |
| Surface/Volume | отношение площади поверхности к объему |
| Volume | объем |

* тор – периферический выпуклый участок дискоцита, пэллор – центральный вогнутый участок дискоцита