

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ЭНТЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Паршин Д.С.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», Астрахань, e-mail: parshin.doc@gmail.com

Проведено экспериментальное моделирование острой энтеральной недостаточности у крыс. Авторы использовали собственную модель. В качестве препарата, индуцирующего кишечную недостаточность, использовали производное пиперидина – лоперамида в дозе 0,09 мг/кг/сут. Исследование проведено на 36 крысах самцах линии Wistar с массой тела 250±30 г, сопоставимых по возрасту. Группы исследования включали по 12 животных. Помимо контрольной группы, были созданы две экспериментальные группы. Первую группу составили животные через 72 ч от начала эксперимента с моделью компенсированной острой кишечной недостаточности, вторую группу – через 120 ч с декомпенсированной острой кишечной недостаточностью. Морфометрически исследовали длину ворсинок, ширину ворсинок, глубину крипт, ширину крипт. В качестве системы детекции использовали систему UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer (ThermoFisher, США). Определяли экспрессию маркеров CD4 и Bcl-2 в энтероцитах. В первой группе отмечались выраженные явления воспаления в виде лимфоплазматической инфильтрации. Наблюдалась укорочение и истончение кишечных ворсин. Достоверно увеличивалось количество CD3+ клеток, которые локализовались преимущественно в центре верхней части ворсинок. Экспрессия Bcl-2 несколько снижалась в сравнении с контролем. Во второй группе в микропрепаратах прогрессировали укорочение и истончение кишечных ворсинок. Толщина кишечной стенки уменьшалась. Исчезали клетки Панета. Отмечены достоверное снижение CD3+ и практически полное отсутствие Bcl-2+ клеток ($p \leq 0,05$). Таким образом, в настоящей работе установлены динамика экспрессии провоспалительного и антиапоптотического маркеров и их взаимосвязь с комплексом морфологических изменений в стенке тонкого кишечника крыс при моделировании острой энтеральной недостаточности. Испытуемая модель компенсированной и декомпенсированной энтеральной недостаточности может быть использована в экспериментальной хирургии для разработки и апробации новых методов лечения.

Ключевые слова: синдром энтеральной недостаточности, маркеры апоптоза, патоморфология тонкой кишки, моделирование кишечной непроходимости, иммуногистохимическое исследование, апоптоз энтероцитов.

IMMUNOSTOCHEMICAL PATTERNS OF EXPERIMENTAL ACUTE ENTERAL INSUFFICIENCY

Parshin D.S.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: parshin.doc@gmail.com

Experimental modeling of acute enteric failure in rats was carried out. The authors used their own model. A piperidine derivative – loperamide at a dose of 0.09 mg/kg/day was used as a drug inducing intestinal failure. The study was carried out on 36 male Wistar rats weighing 250±30 g, comparable in age. The study groups included 12 animals. In addition to the control group, the first group consisted of animals 72 hours after the start of the experiment with a model of compensated acute intestinal failure and the second group after 120 hours with a decompensated one. The length of the villi, the width of the villi, the depth of the crypts, and the width of the crypts were examined morphometrically. An UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer (ThermoFisher, USA) was used as a detection system. Determined the expression of markers CD4 and Bcl-2 in enterocytes. In group I, pronounced inflammation in the form of lymphoplasmacytic infiltration was noted, shortening and thinning of intestinal villi were noted. There was a significant increase in the number of CD3 + cells, which were localized mainly in the center of the upper part of the villi. The expression of Bcl-2 decreased slightly in comparison with the control. In group II, the micropreparations progressed shortening and thinning of intestinal villi. The thickness of the intestinal wall decreased. Paneth's cells disappeared. There was a significant decrease in CD3 + and almost complete absence of Bcl-2 + cells ($p \leq 0,05$). Thus, in this work, we have established the dynamics of expression of pro-inflammatory and antiapoptotic markers and their relationship with a complex of morphological changes in the wall of the small intestine of rats during modeling of acute enteric insufficiency. The tested model of compensated and decompensated enteric insufficiency can be used in experimental surgery to develop and test new treatment methods.

Keywords: enteric insufficiency syndrome, markers of apoptosis, small intestine pathomorphology, modeling of intestinal obstruction, immunohistochemical study, enterocyte apoptosis.

Синдром острой энтеральной недостаточности (ОЭН) – патологический симптомокомплекс, осложняющий множество заболеваний и критических состояний в медицине. Данное осложнение может встречаться при сахарном диабете, ОНМК, различных инфекциях, уремии и ХПН, передозировке лекарств (нейролептиков, антидепрессантов, опиатов и др.), переломах позвоночника и пр. Однако чаще других с данным синдромом встречаются абдоминальные хирурги. Снижение перистальтики кишечника после операции описывается с конца 1800-х гг. Было опубликовано множество исследований по послеоперационной кишечной непроходимости, однако ее патогенез остается загадкой. Экономический ущерб от кишечной непроходимости оценивается в США в 750 тыс. – 1 млрд долларов [1–3]. Этиологию ОЭН лучше всего можно охарактеризовать как многофакторную. Эти факторы действуют одновременно или в разное время в течение послеоперационного периода. Механизмы, участвующие в ОЭН, включают тормозящее симпатическое воздействие; высвобождение гормонов, нейротрансмиттеров и других медиаторов; воспалительную реакцию и эффекты анальгетиков. В экспериментальных исследованиях продолжается выяснение роли и механизмов действия всех этих факторов. Эндогенные опиаты, которые выделяются после операции, по мнению ряда авторов, могут являться причиной ОЭН. Их влияние на опорожнение желудка и сокращение гладких мышц кишечника опосредуется μ -опиоидным рецептором. Энкефалин является мощным агонистом дельта-опиоидных рецепторов, который, как сообщалось, подавляет перистальтику желудка и повышает тонус привратника в экспериментах на животных [4–6]. Одной из наиболее частых причин ОЭН является распространенный перитонит. В данном случае постепенно возникает суперадгированная инфекция, и *Escherichia coli* и *Bacteroides* являются самыми распространенными микроорганизмами. Полость брюшины резко воспаляется с образованием воспалительного экссудата, который распространяется по брюшине, что приводит к расширению кишечника и СЭН [7–9]. Перитонит вызывает кишечную непроходимость вначале из-за воспаления, затем из-за бактериальных токсинов. Бактериальный липополисахарид вызывает СЭН, инициируя воспалительную реакцию в слоях гладких мышц кишечника и последующее снижение сократимости гладких мышц *in vitro* и *in vivo*. Наиболее опасным среди прочих в патогенезе ОЭН является угнетение барьерной функции энтероцитов, что приводит к бактериальной транслокации в портальный тракт и генерализации инфекции [10, 11].

С применением иммуногистохимических методов существенно расширились возможности понимания патогенеза ОЭН. Значимая роль в развитии воспаления принадлежит различным фенотипам Т-клеток. CD3 – мультифункциональный белковый маркер Т-лимфоцитов, отвечающий за передачу сигнала после распознавания антигенов Т-

клеточным рецептором. CD3 регулирует пролиферацию Т-лимфоцитов, высвобождение цитокинов. CD3 нередко рассматривают как количественный маркер иммунного повреждения кишечной стенки. Кроме этого, изменения экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 позволяют оценить состояние энтероцитов [12].

Цель исследования: изучить иммуногистохимические изменения тонкого кишечника, используя экспериментальную модель острой энтеральной недостаточности.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть работы выполнена на базе ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России. Исследования на всех этапах были выполнены в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 и «Правилами лабораторной практики», утвержденными приказом Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 № 708н. Эксперимент проходил с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [Directive 2010/63/EU]. Имеется заключение Этического комитета (протокол № 3 от 31.10.2011). В качестве модели мы использовали разработанную нами методику экспериментального воссоздания ОЭН [13]. Исследование проведено на 36 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 250 ± 30 г, сопоставимых по возрасту. Животным перорально вводился лоперамид (ЛСР-004065/09) 2 раза в сутки в дозе 0,09 мг/сут на 1 кг массы тела с интервалом между введениями 12 ч в течение 5 суток. У животных был обычный, привычный водно-пищевой режим. После моделирования ОЭИ крысы по одной располагались на белом листе бумаги для оценки количества дефекаций (болюсов) в течение 24 ч. Учитывалось среднее число дефекаций по количеству болюсов. Животные под наркозом выводились из эксперимента через 72 и 120 ч при формировании компенсированной (первая группа, n=12) и декомпенсированной (вторая группа, n=12) ОЭН. Результаты сравнивались с результатами контрольной группы интактных животных. Осуществлялся забор образцов тонкого кишечника для проведения морфометрического и иммуногистохимического исследования.

Имуногистохимические исследования проведены в сертифицированной лаборатории (НПК «ПраймБиоМед», Москва). После приготовления парафиновых блоков и получения срезов для расплавления парафина срезы помещали в термостат (Смоленское СКТБ-СПУ, Россия) и нагревали при 60°C в течение 30 мин. Депарафинирование срезов осуществляли в двух сменах о-ксилола («Химмед», Россия) по 10 мин в каждой емкости. Затем следовала регидратация срезов в серии изопропиловых спиртов («Химмед», Россия) убывающей концентрации (100%, 100%, 70%, 50%) в емкостях по 5 мин в каждом. Срезы, освобожденные от парафина, промывали в дистиллированной воде 2 мин. Для блокировки эндогенной пероксидазы использовали раствор для блокировки эндогенной пероксидазы

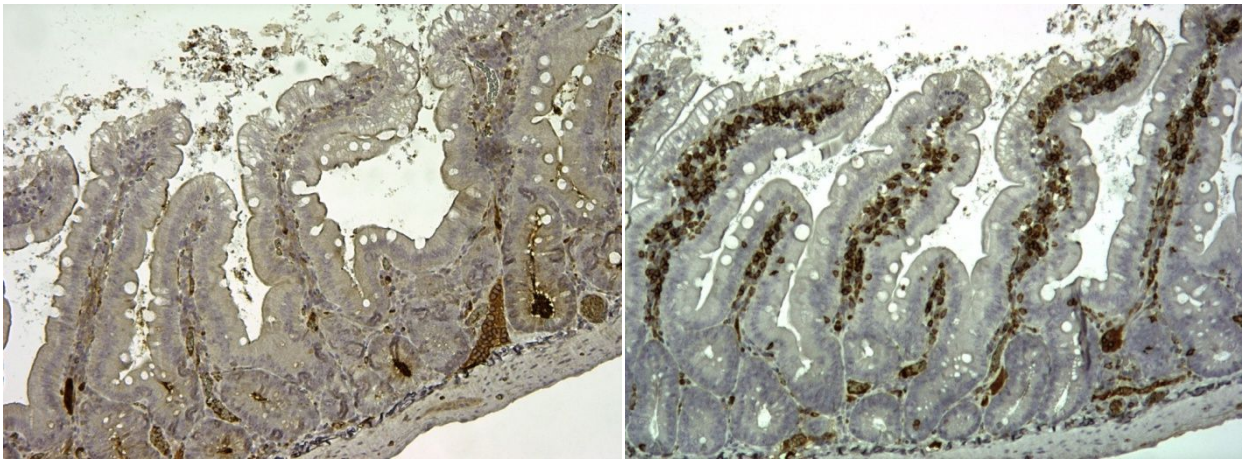
(НПК «ПраймБиоМед», Россия) в виде 5–10-минутной инкубации в емкости с раствором. Температурное восстановление эпитопов антигенов проводили в растворе цитратного буфера, pH 6 (НПК «ПраймБиоМед», Россия) в камере для демаскировки и депарафинизации (BioCare, США) в режиме 110⁰C 10 мин с последующим остыванием срезов в буфере в течение 20 мин. Срезы промывали в двух сменах дистиллированной воды. Дальнейшую работу со срезами проводили в планшете – влажной камере. Срезы предварительно обводили гидрофобным маркером (Daido Sanguo, Япония) для предотвращения растекания реагентов по стеклу и во избежание высыхания заливали буферным раствором для промывки (PBS-T) (НПК «ПраймБиоМед», Россия). Блокировку неспецифического связывания антител проводили с помощью блокирующего раствора (НПК «ПраймБиоМед», Россия), нанесением по 100 мкл на срез и инкубацией 10 мин. Кроличьи антитела к Bcl-2, клон SP66 (Roche, Швейцария) разводили 1:200 в разбавителе антител, кроличьи антитела к CD3 (НПК «ПраймБиоМед», Россия) разводили 1:200. Срезы инкубировали с первичными антителами по 50–100 мкл на срез 1 ч при комнатной температуре во влажной камере, а затем промывали PBS-T буфером 3 раза по 2 мин. В качестве системы детекции использовали систему UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer (ThermoFisher, США) в соответствии с инструкцией производителя, а именно: наносили по 2 капли линкера на срез на 10 мин, промывали PBS-T буфером 3 раза по 2 мин, затем наносили по 2 капли на срез конъюгат с HRP-полимером на 10 мин и промывали PBS-T буфером 4 раза по 2 мин. Раствор хромогена брали из Универсальной поливалентной системы № 1 с HRP DAB (НПК «ПраймБиоМед», Россия): непосредственно перед нанесением готовили смесь 1:1 DAB (реагент B1) и буфера для DAB (реагент B2), на срез наносили по 50–100 мкл смеси и инкубировали 5–10 мин в зависимости от развития коричневой окраски. Промывали в PBS-T буфере для закрепления DAB и в дистиллированной воде. Для визуализации ядер использовали гематоксилин Майера («БиоВитрум», Россия) по инструкции производителя 5 мин в ванночке с раствором. Ополаскивали дистиллированной водой и подсинивали ядра в проточной воде, а затем снова переносили в дистиллированную воду. Дегидратацию срезов проводили в ванночках со сменами изопропиловых спиртов («Химмед», Россия) с повышающейся концентрацией (50%, 70%, 100%, 100%) по 3 мин в каждой. Просветление срезов осуществляли в двух сменах о-ксилола («Химмед», Россия) по 3 мин в каждой. Монтировали полученные препараты под покровное стекло в среду на основе ксилола Витрогель (НПК «ПраймБиоМед», Россия).

Полученные препараты исследовали с использованием микроскопа Olympus BX53 (Olympus, Япония) с набором объективов UPlanFL N 4x/0.13, UPlanFL N 10x/0.30, UPlanFL N 40x/0.75. Фотографии делали с помощью камеры Infinity 2 (Lumenera, Канада) при 40x и 100x

увеличениях. Количественную оценку окрашенных областей проводили визуально по полям зрения. Анализ изображений осуществлялся с помощью программы «Микроанализ Pro» (ООО «ЛОМО-Микросистемы», Санкт-Петербург). Исследовали следующие показатели: длину ворсинок (ДВ), ширину ворсинок (ШВ), глубину крипт (ГК), ширину крипт (ШК). Для каждого маркера определяли оптическую плотность и площадь экспрессии. Указанные параметры отражают интенсивность синтеза или накопления исследуемых молекул. Относительную площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах. Оптическую плотность экспрессии измеряли в условных единицах. Для оценки различий между группами обследуемых применялся параметрический непарный t-критерий. В качестве критического порога значимости выбирался уровень 0,05. Для установления корреляционной связи вычислялся коэффициент парной корреляции Пирсона для номинальных переменных. Для описания данных использовали среднее значение (m) с указанием стандартного отклонения (sd). Статистическую обработку данных, полученных в ходе эксперимента, проводили с использованием пакетов статистических программ Microsoft Excel 2010 и STATISTIKA 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение. В контрольной группе морфологически визуализировались толстая слизистая, практически не нарушенная со стороны просвета, широкие и длинные ворсинки. Длина ворсинок ДВ составляла в среднем $365,3 \pm 4,3$ мкм, ширина ворсинок ШВ – $65,3 \pm 0,9$ мкм, ГК – $76,3 \pm 0,6$ мкм, ширина крипт ШК – $31,3 \pm 0,4$ мкм. В контрольной группе отмечены клетки, отличные от фона, окрашенные Vcl-2.

При морфологическом исследовании в первой группе гистологическая картина характеризовалась выраженным воспалением в строме ворсинок, отмечалась выраженная лимфоплазмоцитарная инфильтрация без примесей нейтрофилов с малым количеством эозинофилов и клеток Панета. Происходило слущивание эпителия, однако участков обнажения собственной пластинки слизистой оболочки не наблюдалось. Лизиса клеток не отмечалось. При морфометрии ДВ составляла в среднем $205,3 \pm 6,3$ мкм, ШВ – $55,3 \pm 1,3$ мкм, ГК – $63,3 \pm 0,9$ мкм, ШК – $26,3 \pm 0,5$ мкм ($p \leq 0,05$). Среднее количество болюсов на 2-е сутки было 1,1, далее дефекации не отмечено. Иммуногистохимические изменения в первой группе: отмечалось большое количество CD3-положительных (Т-клеток), которые локализованы в основном в верхней части ворсинок (в центре), кроме этого, также в этих же зонах встречаются Vcl-2+ клетки. В центре кишечных ворсинок наблюдается воспалительный инфильтрат с преобладанием CD3+ Т-лимфоцитов, Т-клетки также локализованы в верхней части ворсинок (рис. 1).

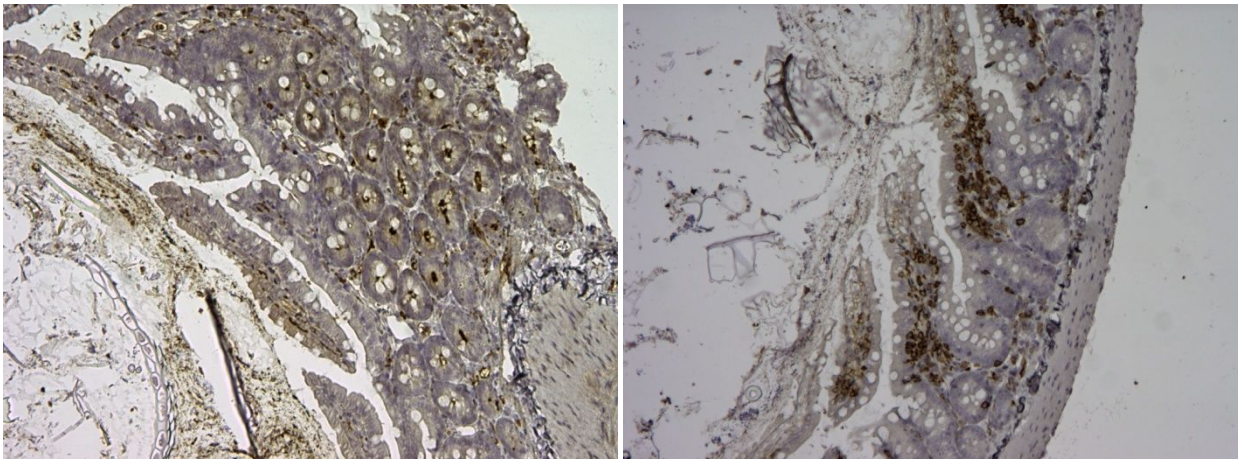


a

b

Рис. 1. Распределение Vcl-2, CD-3 иммунореактивных клеток слизистой оболочки тонкой кишки крыс при моделировании острой энтеральной недостаточности: а – Vcl-2 иммунореактивные энтероциты в эпителии крипт при компенсированной модели ОЭН; б – распределение CD-3+ Т-лимфоцитов в эпителии крипт при моделировании компенсированной ОЭН. Ув. x100

Во второй группе картина характеризовалась утончением слизистой оболочки тонкой кишки, лизисом клеток верхней части ворсинок, при этом основание ворсинок расширено из-за обилия лимфоидных клеток. Клетки Панета отсутствовали. При морфометрическом анализе выявлены значительные изменения размеров ворсинок и крипт – ДВ $145,5 \pm 5,2$ мкм, ШВ – $42,3 \pm 0,8$ мкм, ГК – $53,3 \pm 0,9$ мкм, ШК – $22,2 \pm 0,5$ мкм ($p \leq 0,05$). Дефекация отсутствовала во все сроки наблюдения. Отмечалось уменьшение количества Т-клеток (CD3) за счет того, что из-за лизиса ворсинок сохраняется только их нижняя треть, где локализованы эти клетки. Экспрессия Vcl-2 во второй группе практически отсутствовала (антитела проверены на мезентеральных лимфатических узлах, где показано слабое, но специфичное связывание) (рис. 2).



a

b

Рис.2. Распределение Vcl-2, CD-3 иммунореактивных клеток слизистой оболочки тонкой кишки крыс при моделировании острой энтеральной недостаточности: a – отсутствие экспрессии Vcl-2 в кишечном эпителии на опытных моделях декомпенсированной ОЭН; b – CD3+ клетки располагаются преимущественно в апикальной области стромы ворсинок. Ув. x100

Таким образом, в настоящей работе установлены динамика экспрессии провоспалительного и антиапоптотического маркеров и их взаимосвязь с комплексом морфологических изменений в стенке тонкого кишечника крыс при моделировании ОЭН. В первой группе через 72 ч после начала эксперимента в микропрепаратах отмечались выраженные явления воспаления в виде лимфоплазмодитарной инфильтрации. В эпителии ворсинок встречаются единичные дистрофически измененные клетки, имеющие вид крупных вакуолей. Отмечаются укорочение и истончение кишечных ворсин. В единичных полях зрения наблюдается слущивание эпителия энтероцитов в апикальной части. При этом отмечалось обнажение соединительнотканной основы ворсинок в просвет кишки. Достоверно увеличивалось количество CD3+ клеток, которые локализовались преимущественно в центре верхней части ворсинок. Экспрессия Vcl-2 несколько снижалась в сравнении с контролем ($p \geq 0,05$).

Во второй группе в микропрепаратах прогрессировали укорочение и истончение кишечных ворсинок. Толщина кишечной стенки уменьшалась. Исчезали клетки Панета. Отмечалась массивная десквамация эпителиальных клеток в области вершечек таких боковых стенок с обнажением соединительнотканной основы. Отмечены достоверное снижение CD3+ и практически полное отсутствие Vcl-2+ клеток (табл.).

| Показатель | Контроль (n=12) | Модель компенсированной ОЭН (n=12) | Модель декомпенсированной ОЭН (n=12) |
|---|------------------------------|--|--|
| | Me [min; max]; M±sd | | |
| Оптическая плотность энтероцитов, иммунопозитивных к Vcl-2, у.е. | 0,154±0,043 [0,121;0,198] | 0,124±0,032 [0,09;0,176] | 0,011±0,003* [0,009;0,023] |
| Относительная площадь экспрессии энтероцитов, иммунопозитивных к Vcl-2, % | 11,764±0,385 [8,43;12,34] | 9,342±0,211 [7,65;10,11] | 0,322±0,011* [0,25;0,76] |
| Оптическая плотность энтероцитов, иммунопозитивных к CD-3, у.е. | 1,07±0,16* [0,71;1,45] | 3,27±0,44* [2,76;6,43] | 0,54±0,09* [0,43;0,74] |
| Относительная площадь экспрессии энтероцитов, иммунопозитивных к CD-3, % | 14,43±3,56 [9,11;21,44] | 46,34±5,23* [32,12;59,65] | 9,21±1,43* [6,45;11,76] |

*– достоверность изменений значений при $p \leq 0,05$ по отношению к предыдущему исследованию

По данным некоторых авторов, снижение абсолютного числа лимфоцитов более чем на 65% абсолютного числа CD8+ клеток на 80% свидетельствует о некротических изменениях тонкой кишки [14]. В нашем исследовании отмечено, что при морфологической картине декомпенсированной, необратимой ОЭН относительная площадь экспрессии энтероцитов, иммунопозитивных к CD-3, уменьшались на 36%. Отсутствие экспрессии Vcl-2 служит дополнительным доказательством необратимых апоптических изменений энтероцитов.

Заключение. На основании проведенных морфометрических и иммуногистохимических исследований можно сделать вывод, что используемая модель компенсированной и декомпенсированной ОЭН может быть применена в экспериментальной хирургии для разработки и апробации новых методов лечения.

Список литературы

1. Cheng L., Masoumeh G., Ian S.B. Immunohistochemistry and special stains in gastrointestinal pathology practice. Diagnostic Histopathology. 2020. Vol. 26. No. 1. P. 22-32. DOI: 10.1016/j.mpdhp.2019.10.010.
2. Grainger J.T., Maeda Y., Donnelly S.C., Vaizey C.J. Assessment and management of patients with intestinal failure: a multidisciplinary approach. Clin. Exp. Gastroenterol. 2018. Vol. 11. P. 233-241. DOI: 10.2147/CEG.S122868.

3. Глухов А.И., Грызунова Г.К., Алейникова Т.Л., Черникова Т.Л., Бурт А.Ю. Роль апоптоза в патогенезе некоторых критических состояний // *Общая реаниматология*. 2019. № 2. С. 79-98. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-2-79-98.
4. Mitselou A., Grammeniatis V., Varouktsi A., Papadatos S.S., Katsanos K., Galani V. Proinflammatory cytokines in irritable bowel syndrome: a comparison with inflammatory bowel disease. *Intest Res*. 2020. Vol. 18. No. P. 115-120. DOI: 10.5217/ir.2019.00125.
5. Griffiths S., Glancy D.G. Intestinal obstruction. *Intestinal surgery –I*. 2020. Vol. 38. No. 1. P. 43-50. DOI: 10.1016 / j.mpsur.2019.10.014.
6. Reddy R., Ravinder N. A Study on Intestinal Obstruction. *Ann. Int. Med. Den. Res*. 2019. Vol. 5. No. 3. P. 45-46. DOI: 10.21276/aimdr.2019.5.3.SG12.
7. Федосеев А.В., Муравьев С.Ю., Бударев В.Н., Абуварда Ф.Х., Борисенко Р.С., Панина Н.Ю., Голякова Н.А. К вопросу диагностики ранних признаков полиорганной дисфункции у больных с синдромом энтеральной недостаточности // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2012. Т. 5. № 1. С. 60-64. DOI: 10.18499/2070-478X-2012-5-1-60-64.
8. Козлова И.В., Лаптева Е.А., Кветной И.М. Показатели клеточного обновления слизистой оболочки кишечника при неалкогольной жировой болезни печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2018. № 9. С. 45-50. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-157-9-45-50.
9. Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А., Калиниченко С.Г., Едранов С.С., Каминский Ю.В. Значение апоптоза энтероцитов при воспалительных заболеваниях кишечника // *Бюллетень сибирской медицины*. 2018. № 1. С. 121-129. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-121-129.
10. Woznicki J.A., Flood P., Bustamante-Garrido M., Stamou P., Moloney G., Fanning A., Zulquernain S.A., McCarthy J., Shanahan F., Melgar S., Nally K. Human BCL-G regulates secretion of inflammatory chemokines but is dispensable for induction of apoptosis by IFN- γ and TNF- α in intestinal epithelial cells. *Cell Death Dis*. 2020. Vol. 27. No. 11 (1). P. 68. DOI: 10.1038/s41419-020-2263-0.
11. Бахтин А.А. Особенности иммуногистохимических показателей BCL-XL в тонкой кишке при воздействии неблагоприятных экологических факторов // *Астраханский медицинский журнал*. 2012. № 2. С. 41-44.
12. Кудишина М.М., Козлова И.В., Пахомова А.Л., Крылова Ю.С. Колоноциты, иммунопозитивные к синтазе жирных кислот и CD3, при воспалительных заболеваниях кишечника // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020. № 15 (2). С. 225-229. DOI: 10.14300/mnnc.2020.15053.

13. Паршин Д.С., Топчиев М.А., Голубкина С.А. Способ моделирования острой динамической кишечной непроходимости в эксперименте // Патент РФ. Заявка №2019144322 от 27.12.2019.
14. Артамонова З.А., Намоконов Е.В. Значение некоторых показателей клеточного иммунитета в диагностике острой мезентериальной ишемии // Acta Biomedica Scientifica. 2017. Т. 2. № 6. С. 92-95. DOI: 10.12737/article_5a0a884a825708.48688160.