

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 15, №1

2016



УДК 616.127-05.8:616-018

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ИНТАКТНЫХ ОТДЕЛОВ СЕРДЦА ПРИ ОРГАНИЗАЦИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

© Корнева Ю.С.^{1,2}, Доросевич А.Е.^{1,2}, Копьёва В.М.¹

¹Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28

²ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Россия, 214018, Смоленск, пр-т Гагарина, 27

Резюме: Целью исследования явилось изучение динамики изменения состава клеточных популяций и площади капиллярного русла (ПКР) в интактных зонах сердца при организации инфаркта миокарда (ИМ). Исследовали фрагменты миокарда из зоны некроза, правого желудочка (ПЖ) и центра межжелудочковой перегородки (МП) от 105 больных, умерших на различных этапах организации острого и повторного ИМ. Проводили подсчет клеточных популяций гематогенного происхождения в 10 полях зрения, а также подсчет ПКР после проведения иммуногистохимического исследования с моноклональными антителами CD34 в программе «Videotest 4.0. Морфология». Статистический анализ показал, что интактные зоны сердца также подвержены постинфарктному ремоделированию. Выявили различия в изменении изучаемых параметров в процессе организации острого и повторного ИМ. Основные изменения клеточного состава были связаны с нейтрофильными гранулоцитами, лимфоцитами и клетками фибробластического ряда, а асинхронное изменение ПКР отражает компенсаторные процессы при снижении насосной функции левого желудочка.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, постинфарктное ремоделирование, капиллярное русло, клеточные популяции

MORPHOLOGICAL BASIS OF REMOTE HEART ZONES REMODELING IN MYOCARDIAL INFARCTION HEALING

Korneva Yu.S.^{1,2}, Dorosevich A.E.^{1,2}, Kopyeva V.M.¹

¹Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28

²Smolensk Regional Institute of Pathology, Russia, 214018, Smolensk, Gagarin Av., 27

Summary: the aim of the study is to investigate dynamic of cellular quantitative changes and capillary bed square (CBS) in remote zones of the heart in myocardial infarction (MI) healing. Samples of myocardium from the necrotic zone and remote zones (right ventricle and intraventricular septa) were taken from 105 patients, who died in different periods of acute and recurrent MI. Hematogenous cellular populations were counted in 10 field of view, CBS was measured after immunohistochemical investigation with CD34 using a computer program “Videotest 4.0. Morphology”. Remote zones of the heart can also have postinfarction remodeling. Differences in acute and recurrent MI were revealed. Major changes in cells infiltrate were related to neutrophils, lymphocytes and fibroblastic cells. Asynchronous changes of CBS reflect compensatory processes in decreasing left ventricle pumping force.

Key words: myocardial infarction, postinfarction remodeling, capillary bed, cellular populations

Введение

Согласно современным представлениям, постинфарктное ремоделирование (ПИР) – это структурные, функциональные и геометрические изменения, затрагивающие как инфарктированный, так и интактный миокард [4, 11]. ПИР связано с прогрессированием сердечной недостаточности, повышением риска развития аритмий, что ведет к снижению выживаемости и ухудшению прогноза для пациента [8]. Оно зависит не только от размера зоны некроза, но и адекватности процессов воспаления, которые являются триггером ПИР [11]. С морфологической точки зрения ПИР включает гипертрофию кардиомиоцитов (КМиЦ), развитие фиброза, перестройку сосудистого русла, а также апоптоз КМиЦ и клеток стромы. Данные изменения достаточно изучены и очевидны непосредственно в зоне инфаркта и определяются сменой фаз воспаления, пролиферации и созревания [10], в то время как выявление структурных изменений в отдаленных (интактных) участках сердца пациента с инфарктом миокарда (ИМ) требует

применения более тонких методов. В то же время функциональные методы исследования, методы визуализации, а также математическое моделирование показывают изменение различных характеристик интактных зон с изменением их структурно-функциональных возможностей [14, 15].

Цель исследования – изучить динамику изменения количества клеточных популяций, участвующих в процессе воспаления, динамику изменения площади капиллярного русла (ПКР) при организации острого и повторного ИМ.

Методика

Для полноты оценки динамики ПИР в исследование были включены случаи острого и повторного ИМ, а также постинфарктного кардиосклероза в качестве терминальной фазы организации зоны инфаркта с формированием зрелого малоклеточного рубца – постинфарктного кардиосклероза (ПИКС). Материалом исследования стали фрагменты миокарда 105 больных. Во всех случаях ИМ был трансмуральным, патологический очаг был ограничен одной из стенок левого желудочка.

На основании макро- и микроскопической картины случаи острого и повторного ИМ были разделены на подгруппы: 1) острый и повторный ИМ давностью 1-2 дня – ОИМ1 и ПИМ1 соответственно; 2) острый и повторный ИМ давностью 3–5 дней – ОИМ2 и ПИМ2 соответственно; 3) острый и повторный ИМ давностью более 7 дней – ОИМ3 и ПИМ3 соответственно (табл. 1).

Таблица 1. Распределение случаев в исследуемых группах

Группа	ОИМ1	ПИМ1	ОИМ2	ПИМ2	ОИМ3	ПИМ3	ПИКС
Количество случаев	17	16	11	9	11	11	30

Примечание: ОИМ1 – острый инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ОИМ2 – острый инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ОИМ3 – острый инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИМ1 – повторный инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ПИМ2 – повторный инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ПИМ3 – повторный инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз

На аутопсии забирали фрагменты миокарда объемом 1см³ из центра зоны повреждения (некроз или рубец); пограничной зоны; а также отдаленных интактных зон – центра межжелудочковой перегородки (МП) и центра правого желудочка (ПЖ) на уровне изъятых участка из центра некроза. После обзорной микроскопии с использованием окраски гематоксилином и эозином, во время которой определялась давность инфаркта, в срезах всех исследуемых зон в 10 полях зрения вокруг капилляра, помещенного в центр поля зрения, проводился подсчет абсолютных значений следующих клеточных популяций: лимфоцитов (ЛФ), макрофагов, фиброцитов (ФЦ), фибробластов (ФБ), плазматических клеток и нейтрофильных гранулоцитов (НГ) (окуляр 40, объектив 10, насадка 1,5). Капилляры, располагаемые в центре поля зрения продольно, выбирали случайным образом, главным условием было отсутствие перекрытия полей зрения [1].

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах с использованием моноклональных антител CD34 class II, (clone QVEnd-10), являющихся маркерами эндотелиоцитов и используемых в дальнейшем для автоматического подсчета ПКР. Подсчет ПКР проводили при помощи компьютерной программы «Видеотест 4.0. Морфология», в которой были созданы методики для дифференцировки тканевых структур на основании их оптических параметров (яркостные и цветовые составляющие, оптические плотности), позволяющие произвести подсчет ПКР после предварительного ручного выделения «масок» объектов. При получении изображения от микроскопа и видеокамеры использовали увеличение микроскопа $\times 400$. Поля зрения выбирали таким образом, чтобы они не перекрывались. Для подсчета выбирались поля зрения с поперечным срезом КМЦ, попадание в поле зрения сосудов крупного калибра исключалось. Подсчет и микрофото съемка проводились на микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия), совмещённом с видеокамерой «Progress C10 Plus» (Jenoptik Jena, Германия).

Для статистической обработки данных использовалась программа Statistica 6.0. Гипотеза о нормальности распределения выборок проверялась при помощи критерия χ^2 и была отклонена на уровне значимости $p < 0,05$, что потребовало использования непараметрических методов для проведения статистического анализа. Для выявления стохастических различий между

исследуемыми показателями в сравниваемых группах использовался критерий Манн-Уитни (критерий U) с аппроксимацией нормальным распределением (критерий Z).

Результаты исследования и их обсуждение

В эксперименте на крысах J.I. Virag et al. (2006) показали повышение пролиферативной активности интерстициальных клеточных элементов в межжелудочковой перегородке и правом желудочке при ИМ левого желудочка, но не уточнили, какие именно это клеточные элементы [17]. Рассматривая ПИКС как посредник между острым и повторным ИМ, после статистической обработки в интактных отделах сердца были выявлены следующие статистически значимые различия (табл. 2).

Таблица 2. Результаты статистического анализа динамики изменения клеточных популяций в интактных зонах сердца при постинфарктном ремоделировании

		Центр межжелудочковой перегородки						Центр правого желудочка					
		ЛФ	МФ	ФБ	ФЦ	ПК	НГ	ЛФ	МФ	ФБ	ФЦ	ПК	НГ
ОИМ1-ОИМ2	Z	-2,6*	-0,1	-4,2*	-2,2*	-0,5	-0,3	-0,4	-0,3	-2,1*	-0,5	-1,3	1,0
	p	<0,01	0,92	<0,01	<0,05	0,58	0,78	0,66	0,73	<0,05	0,6	0,19	0,29
ОИМ2-ОИМ3	Z	0,4	-0,1	2,2*	0,8	0,6	0,1	1,3	-0,1	1,1	0,9	0,7	-0,9
	p	0,72	0,89	<0,05	0,4	0,55	0,94	0,19	0,91	0,27	0,35	0,47	0,4
ОИМ3-ПИКС	Z	2,7*	0,4	1,37	0,2	0,1	1,0	1,2	0,2	1,6	-1,7	0,89	3,3*
	p	<0,05	0,68	0,17	0,81	0,92	0,3	0,21	0,84	0,1	0,08	0,37	<0,01
ПИКС-ПИМ1	Z	-4,3*	0,45	-2,5*	0,9	1,5	-2,8*	-2,3*	0,5	-4,6*	-1,2	-0,3	-0,05
	p	<0,01	0,65	<0,01	0,34	0,14	<0,01	<0,05	0,6	<0,01	0,23	0,75	0,95
ПИМ1-ПИМ2	Z	0,5	-0,7	1,19	0,7	0,04	-0,2	0,9	-0,3	0,2	-0,18	-0,3	0,01
	p	0,58	0,51	0,23	0,5	0,96	0,85	0,35	0,79	0,83	0,23	0,74	0,98
ПИМ2-ПИМ3	Z	0,9	0,03	-0,8	-0,9	0,1	0,2	0,5	-0,1	-0,5	-0,8	0,7	0,3
	p	0,38	0,97	0,41	0,37	0,9	0,82	0,62	0,93	0,65	0,44	0,51	0,71
ПИМ3-ПИКС	Z	0,3	0,3	3,4*	1,4	0,4	0,03	0,01	0,04	3,1*	1,5	0,2	1,2
	p	0,73	0,78	<0,01	0,17	0,7	0,97	0,99	0,96	<0,05	0,14	0,84	0,25

Примечание: * – статистически значимые различия. ОИМ1 – острый инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ОИМ2 – острый инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ОИМ3 – острый инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИМ1 – повторный инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ПИМ2 – повторный инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ПИМ3 – повторный инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; ЛФ – лимфоциты; МФ- макрофаги; ФБ- фибробласты; ФЦ – фиброциты; ПК- плазматические клетки; НГ – нейтрофильные гранулоциты

В межжелудочковой перегородке при возникновении острого ИМ в свободной стенке левого желудочка наблюдалось повышение количества ЛФ, вероятно, связанное с процессами аутоиммунизации. Количество ЛФ снижается затем только при формировании рубца. При некрозе миокарда высвобождаются изолированные в норме актин и миозин, возникает пролиферация антиген-представляющих Т-ЛФ [20]. Причем уровень антимиозиновых антител выше у пожилых пациентов, страдающих артериальной гипертензией, сахарным диабетом и перенесших ИМ повторно [2]. Активированные Т-ЛФ не только выступают в качестве посредников при воспалении, но также вызывают апоптоз КМЦ с помощью цитокинов, усиливая повреждение миокарда [9], тем самым способствуя ПИР и прогрессированию сердечной недостаточности [1].

На ранних стадиях возникновения острого и повторного ИМ отмечали повышение количества ФБ и ФЦ, возможно являющееся следствием активации фиброгенеза в условиях тотальной гипоксии миокарда, возникающей при резком падении насосной функции левого желудочка в первые дни с момента формирования некроза, данный факт подтверждается более ранним повышением количества ФБ при возникновении повторного ИМ на фоне уже имеющихся проявлений хронической гипоксии в условиях сердечной недостаточности. При возникновении повторного ИМ также отмечается увеличения количества ЛФ и дополнительно нарастает количество ФБ, не снижающееся вплоть до рубцевания. ФБ являются главными регуляторами прогрессии ишемической болезни сердца и, как известно, имеют обратную связь с Т-ЛФ. Их основные

функции, благодаря секреции цитокинов, факторов роста, хемокинов, постоянной продукции экстрацеллюлярного матрикса и металлопротеиназ, связаны с фиброгенезом [12], а также участием в ангиогенезе. Сразу после ИМ процесс организации начинается с активации резидентных ФБ сердца. Эти ФБ дают начало миофибробластам, играющим важную роль в уменьшении рубца в размерах за счет его сокращения [19]. Образование коллагена миофибробластами регулируется ангиотензином-2 и трансформирующим фактором роста- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). Поскольку эти субстанции являются водорастворимыми, они свободно проходят через интерстиций миокарда и повышают синтез коллагена в отдаленных от очага ИМ зонах сердца [16].

В правом желудочке, как наиболее отдаленной зоне, было выявлено наименьшее количество статистически значимых различий. Количество ФБ, повышающееся при переходе от ОИМ1 к ОИМ2, не претерпевает статистически значимых изменений в процессе «созревания» рубца, но продолжает увеличиваться одновременно с увеличением количества ЛФ без дальнейшего снижения при возникновении повторного ИМ, что отражает вовлечение правого желудочка в ПИР.

Роль НГ в ПИР в настоящее время дискуссионна. Исследователи говорят как о положительном, так и отрицательном влиянии данных клеток на миокард при ИМ [3, 13, 18]. В определенные временные периоды отмечается изменение количества данных клеточных популяций, ответственных за острое воспаление, даже в интактных зонах, что не находит однозначного объяснения.

Описание динамики изменения площади микроциркуляторного русла при ПИР в литературе в основном ограничено зоной повреждения и пограничной зоной. Парное сравнение показателей ПКР в исследуемых зонах выявило следующие статистически значимые различия (табл. 3), отражающие асинхронный характер изменений.

Таблица 3. Динамика изменения ПКР при постинфарктном ремоделировании интактных отделов сердца

	Центр межжелудочковой перегородки		Центр правого желудочка	
	Z	p	Z	p
ОИМ1-ОИМ2	Z=5,97 *	<0,01	Z=8,0*	<0,01
ОИМ2-ОИМ3	Z=1,76	0,78	Z=-2,1 *	<0,05
ОИМ3-ПИКС	Z= -3,2*	<0,01	Z=4,5*	<0,01
ПИКС- ПИМ1	Z=1,0	p=0,3	Z=5,98*	<0,01
ПИМ1-ПИМ2	Z=-0,85	0,39	Z=-0,96	0,33
ПИМ2-ПИМ3	Z=0,56	0,57	Z=-2,09*	<0,05
ПИМ3-ПИКС	Z=2,2*	<0,05	Z=5,9*	<0,01

Примечание: * – статистически значимые различия. ОИМ1 – острый инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ОИМ2 – острый инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ОИМ3 – острый инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИМ1 – повторный инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ПИМ2 – повторный инфаркт миокарда давностью 3-5 дней, ПИМ3 – повторный инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; ПКР – площадь капиллярного русла

При возникновении острого ишемического повреждения ПКР в МП снижается к 3-5 дню, оставаясь неизменной до формирования зрелого рубца. В стадию ПИКС данный показатель повышается, снижаясь в дальнейшем при рубцевании повторного ИМ. В ПЖ изменения ПКР при организации острого и повторного ИМ были аналогичны: снижение ПКР при возникновении ИМ, однако, в отличие от зоны МП, в фазу формирования грануляционной ткани и при остром, и при повторном ИМ наблюдалось повышение ПКР, что является компенсаторным процессом – снижение работы левого желудочка приводит к усилению работы правого [5]. Затем при завершении организации как острого, так и повторного ИМ происходило снижение данного показателя. Возможно, снижение расчетных показателей ПКР в группе ПИКС отражает выраженную дилатацию полостей сердца с уменьшением поперечного сечения сосудов за счет их растяжения [7]. Схематичное отражение процессов ПИР, описанный в статье, представлено на рис. 1 и 2.

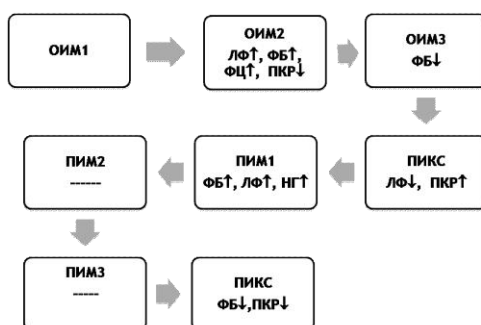


Рис. 1. Динамика изменения количества клеточных популяций и ПКР межжелудочковой перегородке (интактный миокард) при организации острого и повторного инфаркта миокарда левого желудочка.

Примечания к рисункам: ОИМ1 – острый инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ОИМ2 – острый инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ОИМ3 – острый инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИМ1 – повторный инфаркт миокарда давностью 1-2 дня; ПИМ2 – повторный инфаркт миокарда давностью 3-5 дней; ПИМ3 – повторный инфаркт миокарда давностью более 7 дней; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; ЛФ – лимфоциты; МФ- макрофаги; ФБ- фибробласты; ФЦ – фиброциты; ПК- плазматические клетки; НГ – нейтрофильные гранулоциты; ПКР – площадь капиллярного русла

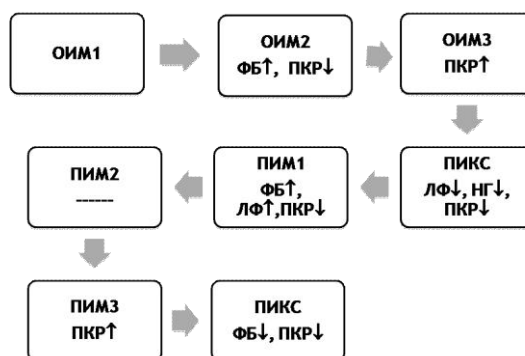


Рис. 2. Динамика изменения количества клеточных популяций и ПКР в правом желудочка при организации острого и повторного инфаркта миокарда левого желудочка

Выводы

1. Выявленные статистическими методами количественные различия для одноименных клеточных популяций при инфаркте миокарда различной давности в интактном миокарде отражают вовлечение в патологический процесс не только зоны некроза, но также отдаленных, интактных отделов сердца.
2. В процессе постинфарктного ремоделирования наблюдается значимое увеличение количества лимфоцитов, фибробластов фиброцитов, что является морфологическим субстратом для прогрессирования фиброза и снижения функциональных возможностей интактного миокарда.
3. Изменение площади капиллярного русла в интактных зонах сердца характеризуется асинхронностью, что также отражает становление компенсаторных механизмов в процессе ремоделирования.

Литература

1. Доросевич А.Е., Голубев О.А., Абросимов С.Ю., Бехтерева И.А. Роль коммуникационных систем в морфогенезе рака молочной железы // Вопросы онкологии. – 1998. –Т.44, №4. – С. 398-402.
2. Киселева А.Ф., Павлович С.И., Ищенко В.Е. и др. Некоторые иммунологические аспекты инфаркта миокарда // Врачебное дело. – 1987. – №7. – С. 8-11.
3. Михайличенко, В.Ю. Индукция репаративного морфогенеза и адаптационных резервов в ишемизированном миокарде при использовании стромальных стволовых клеток костного мозга

- различного фенотипа в эксперименте // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2011. – Т.12, №2. – С. 217-224.
4. Рыбакова М.Г., Кузнецова И.А. Роль апоптоза в ишемическом повреждении миокарда // Архив патологии. – 2005. – Т.67. – С. 23-25.
 5. Сисакян А.С., Оганян В.А., Семерджян А.Б. и др. Влияние фактора ангиогенеза на морфофункциональное состояние миокарда у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда // Российский кардиологический журнал. – 2004. – №2. – С. 63-67.
 6. Cheng X., Liao Yu-H., Ge H. et al. Th1/Th2 Functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation or myocardial inflammation // Journal of Clinical Immunology. – 2005. – V.25, N3. – P. 246-253.
 7. Chilian W. M., Weihrauch D., Stepp D. et al. Does the coronary microcirculation play a role in heart failure? // Dialogues in Cardiovascular Medicine. –1998. – V.3, N3. – P. 147-158.
 8. Cohn J.N., Ferrari R., Sharpe N. Cardiac remodeling – concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling // Journal of American College of Cardiology. – 2000. – N35. – P. 569-582.
 9. Elahi A.W., Vijayakumar A.N., Lichstein E. et. al. Interplay of antibody and T cell responses in acute myocardial infarction // Journal of Laboratory and Clinical Medicine – 2001. –V.138, N2. – P.112-118.
 10. Frangogiannis N.G. Regulation of the inflammatory response in cardiac repair // Circulation Research. – 2012. – N110. – P. 159-173.
 11. Frangogiannis N.G. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling. Natural Reviews Cardiology – 2014. – V.11, N5. – P. 55-65.
 12. Keeley E.C., Mehrad B., Strieter R.M. The role of fibroblast in fibrotic disease of the lung and heart // Fibrogenesis and Tissue Repair. – 2011. – N4. – P.20-25.
 13. Kerner T., Ahlers O., Reschreiter H. et al. Adhesion molecules in different treatments of acute myocardial infarction // Critical Care. – 2001. –V.145, N5. – P. 145-150.
 14. Pilla J.J., Koomalsingh K.J., Mc Garvey J.R. et. al. Regional myocardial three-dimensional principal strains during postinfarction remodeling // Annals of Thoracic Surgery. – 2015. – V.9, N3. – P. 770-778.
 15. Springeling T., Uitterdijk A., Rossi A. et. al. Evolution of reperfusion post-infarction ventricular remodeling: new MRI insights // International Journal of Cardiology. – 2013. – V.20, N169. – P. 354-358.
 16. Sun Y., Kiani M.F., Postlethwaite A.E. et al. Infarct scar as living tissue // Basic Research in Cardiology. – 2002. – N.97. – P. 343-347.
 17. Virag J.I., Murry C.E. Myofibroblast and endothelial cell proliferation during murine myocardial infarct repair // American Journal of Pathology. – 2003. – V.163, N6. – P.2433-2440.
 18. Wern S.W., Lucchesi B.R. Leukocytes, oxygen radicals, and myocardial injury due to ischemia and reperfusion // Free Radical Biology & Medicine. –1988. –V.4. – P. 31-37.
 19. Yano T., Miura T., Ikeda Y. et al. Intracardiac fibroblasts, but not bone marrow derived cells, are the origin of myofibroblasts in myocardial infarct repair // Cardiovascular Pathology. – 2005. – N14. – P. 241-246.
 20. Zhang J., Liao Y., Cheng X. et al. Myosin specific T-lymphocytes mediated myocardial inflammation in adoptive transferred rats // Cellular & Molecular Immunology. – 2006. – V.3, N6. – P. 445-451.

Информация об авторах

Корнева Юлия Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, врач-патологоанатом отделения клинической патологии № 2 ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии. E-mail: ksu1546@yandex.ru

Доросевич Александр Евдокимович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, директор ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии. E-mail: OGUZSOIP@yandex.ru

Копьёва Валентина Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: anatom@smolgm.ru