**Научный доклад по теме научно-квалификационной работы.**

**Тема: «Морфологические проявления дисплазии соединительной ткани в реберных хрящах при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки».**

**Актуальность**

Наследственные (врожденные) деформации грудной клетки (ВДГК) у детей – тяжелые заболевания, приводящие к косметическим дефектам, патологии дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Наиболее распространенными из них являются воронковидная (pectus excavatum, PE) и килевидная (pectus carinatum, PC) деформации. Частота встречаемости PE составляет 0,1-0,8 на 100 населения, PC встречается в 2-4 раза реже [Fokin, Steuerwald et al. 2009, Cobben, Oostra et al. 2014]. Единственным способом устранения деформации является хирургическая коррекция, однако частота неудовлетворительных результатов и послеоперационных рецидивов и составляет от 3,5% до 32% [Fonkalsrud and Beanes 2001, Williams and Crabbe 2003, Карабеков, Бектаеви др. 2011, Горемыкин, Погосян и др. 2012]. Это связано с отсутствием четких представлений о патогенезе ВДГК [Кулик, Плякин и др. 2013]. Этиология и патогенез PC и PE выяснены недостаточно. Полагают, что к PE и PC приводят структурно-функциональные изменения реберных хрящей, однако результаты проведенных исследований не дают исчерпывающей информации об их роли в патогенезе заболеваний [Fokin, Steuerwald et al. 2009, Desmarais and Keller 2013, Cobben, Oostra et al. 2014]. Вероятно, ВДГК является проявлением дисплазии соединительной ткани (ДСТ) [Кадурина 2009, Loeys 2010, Кадурина и Аббакумова 2014]. ДСТ – полиорганная и полисистемная патология с прогредиентным течением, в основе которой лежат дефекты синтеза или катаболизма компонентов ЭЦМ или регуляторов морфогенеза соединительной ткани [Кадурина 2009]. Однако, до сих пор не изучена роль ДСТ в развитии PE и PC. Также неизвестны морфологические субстраты ДСТ в реберных хрящах, приводящие к развитию PE или PC у детей [Fokin, Steuerwald et al. 2009, Cobben, Oostra et al. 2014]. Не описана конкретная роль амиантоидной трансформации матрикса реберных хрящей при PE и PC, несмотря на упоминание о ней некоторыми авторами [Бардахчьян Э.А. 2002].

**Целью исследования** является выявление характерных морфологических проявлений дисплазии соединительной ткани в реберных хрящах у детей с PE и PC, играющих роль в патогенезе этих заболеваний.

**Задачи исследования:**

1. Изучить гистологическое строение реберных хрящей у детей с нормальной грудной клеткой (контроль), а также при воронковидной и килевидной деформациях.
2. Выявить основные морфологические изменения, происходящие в клетках и матриксе реберных хрящей в контроле, а также при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки.
3. С помощью методов морфометрии рассчитать площадь и/или частоту встречаемости выявленных морфологических изменений клеток и матрикса в гистологических препаратах реберных хрящах во всех исследуемых группах.
4. С помощью методов математической статистики выявить достоверные морфологические различия в реберных хрящах в группе контроля и в группах с воронковидной и килевидной деформациями:
5. Различия между группами с ВДГК (воронковидная и килевидная деформации) и контролем;
6. Различия между группой с воронковидной и группой с килевидной деформациями.
7. Дать характеристику выявленных морфологических изменений с помощью гистохимических, электронно-микроскопических, иммуногистохимических, нелинейно-оптических методов исследования, а также – атомно-силовой микроскопии.
8. Разработать патогенетическую модель развития обеих видов деформаций с обоснованием роли этих изменений как проявлений дисплазии соединительной ткани в развитии каждого из них.

**Объект исследования.** Изучены образцы ткани реберного хряща 4-го и 5-го ребер от 12 пациентов 8-17 лет обоих полов с PE и от 12 пациентов 9-17 лет обоих полов с PC, полученных при реконструктивной торакопластике. У всех пациентов были получено добровольное согласие на морфологическое исследование операционного материала. В качестве контроля были изучены аутопсийные образцы реберных хрящей 4-го и 5-го ребер, полученные у 10 детей обоих полов, умерших в возрасте от 8 до 17 лет и не имевших деформаций грудной клетки. В исследование не были включены пациенты или умершие с травмами грудной клетки и с заболеваниями опорно-двигательного аппарата.

**Предмет исследования** – морфологические изменения в реберных хрящах при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки.

**Научная новизна.**

Впервые в мире детально изучены различные морфологические проявления дисплазии соединительной ткани в реберных хрящах при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки. Впервые использован комплекс методов, включающий морфометрию, атомно-силовую, нелинейно-оптическую микроскопии и иммуногистохимию для детального описания амиантоидной трансформации матрикса реберных хрящей как в норме, так при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки.

Впервые изучена роль амиантоидной трансформации как морфологического проявления дисплазии соединительной ткани, являющейся основой патогенеза воронковидной и килевидной деформаций грудной клетки.

**Практическая значимость.**

Выявленные характерные морфологические изменения реберных хрящей позволяют при проведении биопсии оценивать их функциональное состояние перед оперативным вмешательством, что будет способстовать выбору оптимальной хирургической тактики при лечении таких больных.

Полученные данные являются основой для выделения конкретных молекулярных механизмов, посредством которых дисплазия соединительной ткани приводит к тому или иному виду ВДГК, что позволит разрабатывать адекватные патогенетические подходы к профилактике и лечению этих тяжелых заболеваний.

**Краткое изложение теоретических положений научно-квалификационной работы.**

1. При воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки наиболее значимые изменения в матриксе реберных хрящей представлены изменением количественных характеристик участков амиантоидной трансформации (АТ) разных типов (частота встречаемости, площадь, корреляции с возрастом и между типами); качественные характеристики АТ во всех исследуемых группах идентичны; это позволит рассматривать воронковидную и килевидную деформации как разные варианты одного заболевания;
2. АТ – многостадийный процесс латеральной агрегации фибрилл коллагена 2 типа из более мелких в нативном матриксе в более крупные при участии протеогликанов. Во всех исследуемых группах определяются 4 типа АТ, переходящие друг в друга: «тонковолокнистый», «переплетенный», «классический» и «внутрилакунарный»;
3. Участки АТ «тонковолокнистого» (и, возможно, «классического») типов усиливают механические свойства реберного хряща, в то время как «переплетенный», «классический» и «внутрилакунарный» типы являются деструктивными формами («амиантоидная дегенерация»);
4. Количественные изменения участков АТ разных типов в группе с воронковидной и килевидной деформациями имеют как сходства, так и различия, определяющие тип деформации;
5. Клеточные изменения при воронковидной и килевидной деформациях сопровождаются уменьшением общего количества хрящевых лакун, что может быть результатом деформаций грудной клетки, а не их причиной;
6. Изменения количества пустых (без хондроцитов) лакун, частоты встречаемости и средней относительной площади хрящевых каналов не играют роли в развитии воронковидной и килевидной деформаций;
7. АТ может рассматриваться, как главный морфологический субстрат дисплазии соединительной ткани в реберных хрящах при воронковидной и килевидной деформациях, определяющий возникновение того или другого вида ВДГК.

**Методы исследования**

*Световая, фазово-контрастная, темнопольная и поляризационная микроскопии.* Фрагменты тканей фиксировали в растворе 10% нейтрального формалина, декальцинировали, дегидратировали и заливали в парафиновые блоки. Из всех образцов изготавливали поперечные и продольные серийные срезы толщиной 4-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону и пикросириусом красным, а также по методу Маллори в модификации Gallego на коллагеновые волокна, толуидиновым и альциановым синим на кислые гликозаминогликаны (ГАГ). Препараты изучали при помощи световой, фазово-контрастной, темнопольной и поляризационной микроскопий. Исследование, анализ и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа «LEICA DM4000 B LED», оснащенного цифровой видеокамерой «LEICA DFC7000 T» и программного обеспечения «LAS V4.8» (Leica Microsystems, Швейцария).

*Морфометрическое исследование.* Проведено морфометрическое исследование фотографий 68 поперечных срезов реберных хрящей (темнопольная микроскопия). Для каждого предварительно выделенного типа АТ, а также – хрящевых каналов, в выбранных полях зрения производилась оценка частоты встречаемости в полях зрения (в %) и средней относительной площади. Также рассчитывали среднюю относительную площадь хрящевых каналов, общее количество лакун и количество пустых лакун, частоты встречаемости гипер- и гипоцеллюлярных зон.

Результаты морфометрического исследования анализировали статистически с использованием стандартного пакета программ IBM SPSS Statistics 20. Расчет границ 95-процентных доверительных интервалов (ДИ95%) для частот встречаемости хрящевых каналов, гипо- и гиперцеллюлярных зон, а также – различных типов АТ в группе контроля и в группе пациентов с PE и PC производили по формуле “P±1,96∗√(P× (1−P)N+0,5𝑁)×100[%]”, где P – выборочная доля (в долях единицы), N - общее число наблюдений ([Гланц 1999](#_ENREF_1)) с помощью программы Excel стандартного пакета Microsoft Office 2010. Оценка различий средней относительной площади участков АТ и хрящевых каналов в трех группах осуществлялась посредством сравнения ДИ95% для средних значений. Для оценки корреляции применялся двухсторонний критерий Спирмена при уровне значимости «р» равном 0,05.

*Трансмиссионная и сканирующая электронные микроскопии.* Образцы тканей фиксировали в 2,5% глутаральдегиде, контрастировали в насыщенном водном растворе уранилацетата. Срезы толщиной 25 нм, полученные на ультратоме, дополнительно контрастировали в насыщенном растворе OsO4, просматривали в ТЭМ. Предварительно с помощью светового микроскопа изучали полутонкие срезы ткани толщиной 1 мкм, которые окрашивали трехцветным методом с помощью метиленового синего, азура II и основного фуксина (МАFТ). Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) использовали неокрашенные депарафинированные микротомные срезы толщиной 20 мкм на покровных стеклах. На части срезов на проводящей (углеродной) клейкой ленте методом плазменного напыления наносилась металлическая пленка толщиной порядка 15-20 нм. Образец исследовали с помощью аппарата Fenom. Другие срезы без напыления изучали с помощью аппарата Zeiss 1450 (Германия).

*Нелинейная оптическая микроскопия (НЛОМ).* Для НЛОМ изготавливали неокрашенные депарафинированные микротомные срезы толщиной 20 мкм. НЛОМ исследование было выполнено с помощью системы лазерной сканирующей микроскопии. Нелинейное возбуждение осуществлялось импульсным (100 фс) излучением Ti:сапфир лазера на длине волны 800 нм с частотой повторения импульсов 80 MГц и средней мощностью 10 мВт. Обратно направленный сигнал генерации второй гармоники (ГВГ) выделяли с помощью дихроичного фильтра видимого излучения и узкополосного фильтра (400/10 нм). Изображение среза, содержащее 1024х1024 пикселя, формировалось с помощью объективов типа Plan-Neofluar с увеличением х10, х20 и х40 без иммерсии, и х50 с иммерсией в масле. Изображение при этих увеличениях соответствовало области с физическими размерами 900х900, 450х450 и 225х225 мкм, соответственно. Изображение обрабатывали с помощью оригинального программного обеспечения.

*Атомно-силовая микроскопия (АСМ).* Для АСМ изготавливали неокрашенные депарафинированные микротомные срезы толщиной 20 мкм. Области для сканирования отбирали после гистологического исследования неокрашенных депарафинированных образцов толщиной 20 мкм, помещенных на предметные стекла. Из каждой интересующей области матрикса отбирались минимум 5 изображений для последующего анализа. Изображения получали с помощью зондов с номинальным модулем упругости 5 Н/м, номинальной частотой 150 кГц и номинальным радиусом кончика 8 нм. Чувствительность кантилевера к отклонениям измерялась относительно стандартам по образцу. Каждое изображение получали при изучении площади среза 3×3 мкм, детализированные изображения были получены при скорости сканирования 1 Гц и при разрешении 512×512 пикселей посредством инструментов Height, Peak Force Error, Young’s modulus (by the DTM model), каналы адгезии и деформации изучались одновременно. Нативные АСМ-изображения были обработаны и проанализированы программой NanoScope Analysis v.1.10 software.

*Иммуногистохимическое исследование.* Парафиновые срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на адгезивные стекла и сушили при температуре 37°С в течение 18 часов. После снятия парафина со срезов, их регидратировали в батарее спиртов 95, 80 70, инкубируя в каждом растворе по 2 минуты. Восстановление антигенной активности проводили в PT Link при температуре 97°С в течение 20 мин. в 10 мМ цитратном буфере рН 6,0. Затем охлажденные до 650С срезы промывали фосфатным буфером и обрабатывали гиалуронидазой (64 УЕ) в течение часа при 37 С. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы помещали во влажные камеры (для предотвращения высыхания) и инкубировали 15 минут в 3% растворе перекиси водорода. Неспецифическое белковое связывание первичных антител с исследуемым материалом не допускали благодаря 10-минутной реакции с белковым блоком при комнатной температуре. Реакцию со следующими первичными антителами: мышиные моноклональные антитела к коллагену человека I типа, кроличьи поликлональные антитела к коллагену человека II типа и мышиные моноклональные антитела к коллагену человека III типа проводили в течение 30 минут при комнатной температуре. К первичным антителам добавляли вторичные. Для визуализации мест связывания антител с антигенами использовали реакцию окисления субстрата 3,3-диаминобензидина (ДАБ) пероксидазой хрена в присутствии перекиси водорода с образованием водонерастворимого конечного продукта коричневого цвета. Для правильной постановки реакций ставили положительные и отрицательные контроли.

 **Результаты исследования.**

При гистологическом исследовании на малых увеличениях реберный хрящ во всех исследуемых группах представляет собой гиалиновый хрящ, покрытый надхрящницей. Матрикс хряща пронизывают немногочисленные хрящевые каналы, представляющие собой инвагинации надхрящницы. Он разделяется на периферическую (субперихондрий, поверхностная зона) и центральную (глубокую) зоны. Последняя имеет типичное хондроннное строение с наличием территориального и интертерриториального матрикса.

Морфологическое изучение реберного хряща во всех исследуемых группах, выявило очаги амиантоидной трансформации (АТ) разных размеров, формы и структуры, которые располагались мозаично. В их составе определялись многочисленные амиантоидные волокна (АВ), состоящие из фибрилл. Было выделено три новых типа АТ, помимо описанного в литературе «классического». АВ в их составе обладали всеми характеристиками коллагеновых волокон. Иммуногистохимическое исследование выявило, что АВ состоят из коллагена II типа и не содержат I и III типы.

«Классический» тип АТ образован на микро- и ультраструктурном уровнях прямыми, параллельными коллагеновыми волокнами, состоящими из фибрилл. Волокна аномально толстые для коллагеновых волокон нормального матрикса гиалинового хряща (до 1,5 мкм), но имеют все их тинкториальные характеристики (окраска по Ван Гизону, пикросириусом красным и по Маллори). Оптические свойства волокон (анизотропия при поляризационной микроскопии, яркость при фазово-контрастной и, особенно, темно-полной микроскопиях) выражены значительно сильнее, чем в нормальном матриксе. При окраске толуидиновым или альциановым синим выявляется резко сниженное содержание гликозаминогликанов (ГАГ) между АВ, но их количество увеличивается вокруг участков АТ (особенно, в области «тонковолокнистого» типа). Фибриллы при СЭМ, ТЭМ и АСМ также аномально толсты для матрикса хряща. Они состоят из латерально агрегированных относительно тонких субфибрилл, а сами образуют агрегаты, видимые уже при световой микроскопии в виде АВ. Содержание протеогликанов в межфибриллярном веществе уменьшено, при сравнении с нормальным матриксом. В центральных отделах АВ подвергаются лизису.

Тип АТ «переплетенные волокна» не отличается от «классического» типа по основным параметрам микро- и ультраструктуры (ТЭМ, СЭМ, АСМ). Однако АВ этого типа АТ, не теряя продольной ориентации, переплетаются между собой. «Тонковолокнистый» тип на микро- и ультраструктурных уровнях состоит из разнонаправленных и переплетенных между собой волокон и фибрилл соответственно. Диаметр фибрилл значительно меньше, чем в «классическом» типе АТ (200-700 нм) и в «переплетенных волокнах», но больше, чем в нормальном матриксе, а формирование из них конгломератов позволяет их видеть на больших увеличениях при обычной и фазово-контрастной световой микроскопиях, а также – в темном поле. Кроме того, местами отмечается тенденция к продольной ориентации волокон и фибрилл этого типа. Следует подчеркнуть, что в участках «тонковолокнистого» типа АТ значительно увеличивается содержание ГАГ.

При АСМ выявлено достоверное снижение упругости в участках АТ «классического», «переплетенного» и «тонковолокнистого» типов по сравнению с нативным матриксом, в то время, как нативный матриксе проявлял намиеньшие адгезивные свойства по сравнению с участками АТ.

Вокруг и внутри очагов «классического» типа и «переплетенных волокон», значительно увеличивается содержание крупных многоклеточных клонов (кластеров) хондроцитов. В этих участках как отдельные хондроциты, так и их крупные кластеры находятся в состоянии вакуолизации, апоптоза и некробиоза. При этом, в этих участках в форме двояковыпуклых линз, соответствующие разрушенным клонам. Эти полости могут быть пустыми, заполненными клеточным детритом и хаотично переплетенными в виде клубков или звездчатыми АВ. Вышеописанный вариант был нами описан как «внутрилакунарный» тип АТ.

При PE и PC частота встречаемости участков некоторых типов АТ статистически достоверно больше, чем в контроле. Однако, отсутствуют достоверные различия между обеими деформациями. Несмотря на это, отмечается ряд особенностей, характерных для PE и PC. «Тонковолокнистый» и «переплетенный» типы достоверно чаще встречаются при обоих видах деформаций по сравнению с нормой, но при PE существенно преобладает «переплетенный». При этом, различия в частоте встречаемости «переплетенного» типа между PE и PC близки к уровню статистической значимости. «Классический» тип достоверно чаще встречается в группе с PC по сравнению с контролем, причем частота встречаемости также значительно больше при PC по сравнению с PE. Однако эти различия не достоверны из-за разброса данных. «Внутрилакунарный» тип является наиболее редким типом, он не дал статистических различий между исследуемыми группами детей.

Статистический анализ свидетельствует о достоверном увеличении относительной суммарной площади всех типов АТ при обоих видах деформаций по сравнению с контролем. При этом достоверных различий между двумя видами деформаций не обнаружено. Площадь участков «тонковолокнистого» типа достоверно больше при деформациях по сравнению с контролем. В хряще пациентов с PC отмечается большая площадь данного типа АТ, по сравнению с PE, однако это различие не достигает принятого уровня статистической значимости. Площадь участков «переплетенного» типа в группе с PE статистически достоверно больше по сравнению с контролем, в то время как в группе с PC отмечается лишь незначительное ее увеличение без статистической значимости. Несмотря на значительное преобладание площади «переплетенных волокон» в группе с PE, по сравнению с PC, статистически значимые различия между ними также отсутствуют. Площади «классического» и «внутрилакунарного» типов АТ статистически не различаются во всех группах. Однако отмечается тенденция к преобладанию участков «классического» типа в группе с PC.

Во всех случаях наиболее распространенным по площади типом является «тонковолокнистый», а наименее распространенным – «внутрилакунарный». При PE площадь «переплетенного» типа статистически значимо больше площади участков АТ «классического» типа. При PC и в контроле площади «классического» типа и «переплетенного» типа статистически не различаются между собой, однако при PC отмечается тенденция к преобладанию площади «классического» типа над переплетенным.

Корреляционный анализ показал различия как между контролем и деформациями грудной клетки, так и между PE и PC. Во всех группах отмечаются положительные корреляции между возрастом и различными типами АТ. В группе контроля статистически значимые положительные корреляции по относительной площади отмечаются между всеми типами АТ, кроме «тонковолокнистого». При деформациях грудной клетки статистически значимые корреляции немногочисленны и имеют отрицательный характер: при PC – между «тонковолокнистым» и «классическим» типами, при PE – между «тонковолокнистым» и «классическим», а также между «переплетенным» и «тонковолокнистым» типом.

В обеих группах с ВДГК выявлено достоверное снижение общего количества хрящевых лакун без статистически значимых различий между PE и PC. Однако, можно отметить тенденцию: наименьшее количество лакун отмечается в группе с PC, а наибольшее – в контроле. Доля пустых лакун не различается в исследуемых группах, однако в группе с PE отмечается несколько большее их количество. Частота встречаемости гиперцеллюлярных зон статистически достоверно больше в группе контроля, в то время, как в группах с ВДГК она значительно меньше. Необходимо отметить отсутствие достоверных различий между PE и PC в исследуемых группах, однако при PC частота встречаемости гиперцеллюлярных зон несколько меньше, чем в PE. Гипоцеллюлярные зоны, в отличие от гиперцеллюлярных, достоверно чаще встречаются в группах с ВДГК без достоверных различий между PE и PC. При этом в группе с PC количество гипоцеллюлярных зон наибольшее. Корреляционный анализ показал общие тенденции между количеством лакун в полых зрения и возрастом детей во всех исследуемых группах. Так с возрастом количество лакун в полях зрения уменьшается, о чем свидетельствуют отрицательные корреляции. Однако, только в группе с PC отмечается отрицательная корреляция между возрастом и долей пустых лакун.

В группе с PC хрящевые каналы достоверно реже встречаются, чем в группе контроля, однако их частота встречаемости не отличается от частоты в группе с PE. Также частоты встречаемости каналов при PE и в контроле не отличаются между собой. Статистически достоверные различия между площадью хрящевых каналов во всех исследуемых группах обнаружены не были. Статистически достоверные корреляции между возрастом и площадью хрящевых каналов не обнаружены.

**Выводы, рекомендации и предложения**

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разные типы АТ являются стадиями единого процесса (рис. 1).



Рис. 1. Предполагаемая схема реорганизации нативного матрикса реберного хряща при АТ.

Этот процесс заключается в трансформации нативного матрикса в «тонковолокнистый» тип (отвечающий за усиление механической прочности матрикса хряща) с последующей его трансформацией в «переплетенный» и/или «классический» типы (отражение дегенерации «тонковолокнистого» типа). «Внутрилакунарный» тип возникает вблизи «классического» и «переплетенного» типов, что связано с нарушением трофики нативных хондроцитов, которые его синтезируют. При разрушении лакун он встраивается в участки АТ двух вышеперечисленных типов.

Инициирующая роль трансформации нативного матрикса в «тонковолокнистый» тип АТ принадлежит механической нагрузке, воздействующей на реберный хрящ. «Тонковолокнистый» тип вносит основной вклад в увеличение частоты встречаемости и относительной площади участков АТ при обоих видах ВДГК, Это отличает ВДГК от группы контроля. Различия в перестройке матрикса хряща между PE и PC являются только количественными (частота, площадь участков АТ различных типов, корреляции). При PE отмечается значительное увеличение частоты встречаемости и площади «переплетенных волокон» и преобладание их над «классическим» типом, в то время как при PC преобладает «тонковолокнистый» тип при незначительном увеличении содержания и частоты встречаемости «классического». Только при PE отмечается отрицательная корреляция между площадью «тонковолокнистого» типа и «переплетенными волокнами». Возможно, это связано с локальным переходом «тонковолокнистого» типа в «переплетенные волокна» либо с остановкой трансформации «тонковолокнистого» типа в «классический». Различная возрастная динамика перехода «тонковолокнистого» типа в «переплетенные волокна» и «классический» тип, а также изменения взаимоотношений всех типов АТ между собой при деформациях грудной клетки отражают нарушение биомеханических свойств реберного хряща, приводящее к PE или PC (рис. 2).



Рис.2. Предполагаемая роль АТ в патогенезе PE и PC

Клеточные изменения в обеих группах идентичны и представлены уменьшением количества хрящевых лакун по сравнению с группой контроля. Отсутствие принципиальных различий между группами с ВДГК в клеточном составе при количественных различиях АТ матрикса реберных хрящей может свидетельствовать о вторичном характере уменьшения количества лакун по отношению к деформациям. Роль хрящевых каналов в патогенезе ВДГК при статистической обработке данных морфометрии выявлена не была.

Таким образом, можно считать, что нарушения процессов АТ в реберных хрящах при PE и PC являются главным морфологическим субстратом ДСТ, меняющим свойства матрикса. При этом характер нарушения АТ влияет на развитие одного из типов ВДГК.

**Практические рекомендации.**

1. При торакопластике рекомендуется обязательное исследование операционного и биопсийного материала резекции реберных хрящей на предмет наличия и выраженности различных типов АТ, что может иметь прогностическое значение и влиять на дальнейшую хирургическую тактику. Важное прогностическое значение будет иметь повторная биопсия фрагментов реберных хрящей в отдаленном послеоперационном периоде.
2. У семейных пар с признаками ДСТ рекомендуется исследование мутаций генов коллагена II типа или генов, связанных с его метаболизмом. Это необходимо для профилактики рождения детей с ВДГК.
3. В качестве консервативных методов лечения PE и PC рекомендуется облучение реберных хрящей с помощью лазера определенной длины волны, которые влияют на формирование межмолекулярных поперечны сшивок в коллагеновых фибриллах.

**Личный вклад автора.** Клинико-морфологический анализ, морфологическая, морфометрическая, гистохимическая и иммуногистохимическая части исследования, а также статистическая обработка и систематизация полученных результатов выполнены лично автором. Автор принимал непосредственное участие в НЛОМ, АСМ, ТЭМ и СЭМ.

**Список публикаций:**

1. Курков А.В., Шехтер А.Б., Пауков В.С. Структурные и функциональные изменения реберных хрящей при воронковидной и килевидной деформациях грудной клетки (обзор литературы) – Архив патологии – 2017 (в печать)
2. Kurkov A. V. et al. The morphological and morphometric study of amianthoid transformation of the costal cartilage in health and in keeled chest deformity in children //Arkhiv patologii. – 2016. – Т. 78. – №. 6. – С. 30.
3. КУРКОВ А.В., ШЕХТЕР А.Б., ГУЛЛЕР А.Е., ЗАХАРКИНА О.Л. СРАВНЕНИЕ СВЕТОВОЙ И НЕЛИНЕЙНО-ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ РЕБЕРНЫХ ХРЯЩЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ИЗУЧЕНИИ ВРОЖДЕННЫХ ДЕФОРМАЦИЙ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ. Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Медицинская Весна-2015»/ Сборник материалов (г. Москва, 19 мая 2015 года) / Под ред. В.Н. Николенко (ответственный редактор) и др., стр. 444.
4. ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ РЕБЕРНЫХ ХРЯЩЕЙ ПРИ ВОРОНКОВИДНОЙ И КИЛЕВИДНОЙ ДЕФОРМАЦИЯХ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ. VIII Конференция молодых ученых РМАНПО с международным участием «Горизонты медицинской науки»: сборник материалов конференции; ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования». М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2017. Т. I. Стр. 249.
5. ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ РЕБЕРНЫХ ХРЯЩЕЙ ПРИ ВОРОНКОВИДНОЙ И КИЛЕВИДНОЙ ДЕФОРМАЦИЯХ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ. Сборник тезисов VI Научно-практической конференции с международным участием «Путь в науку» (Москва, 25 апреля 2017 г.). – М.: Издательство Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, 2017. – 82 с.
6. А.В. Курков, А.Б. Шехтер, А.Е. Гуллер, С.Л. Котова, П.С. Тимашев, А.Л. Файзуллин, В.С. Пауков. АМИНАТОИДНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РЕБЕРНОГО ХРЯЩА ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ДЕФОРМАЦИЯХ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ. Сборник тезисов V Съезда Россий­ского общества патологоанатомов – 2017 г. (в печати).