

© А. Н. Захватов, Т. В. Тарасова, И. А. Захаркин, А. А. Чекмаева, 2019
УДК 616.728.018-007.248-02:616.72-001:599.323.4

А. Н. Захватов¹, Т. В. Тарасова², И. А. Захаркин¹, А. А. Чекмаева¹

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХРЯЦА И СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОАРТРОЗА

¹ Кафедра общей хирургии им. проф. Н. И. Атясова (зав. — проф. А. Н. Беляев), ² кафедра нормальной и патологической физиологии (зав. — проф. Н. С. Русейкин), ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», Медицинский институт, г. Саранск

Цель — гистологическое и морфометрическое исследование структур сустава в норме и после моделирования травматического повреждения.

Материал и методы. У 30 белых нелинейных крыс моделировали повреждение коленного сустава. В динамике эксперимента изучена морфология тканей сустава, проведена морфометрическая оценка толщины хряща, синовиальной оболочки, численной плотности хондроцитов.

Результаты. Выявлено развитие необратимых дегенеративно-деструктивных процессов в синовиальной оболочке и хряще, которые захватывали все слои и преобладали в поверхностной и промежуточной зоне. Определялось увеличение общей толщины хряща до $248,14 \pm 3,91$ мкм, покровного слоя синовиальной оболочки — до $49,36 \pm 0,82$ и снижение численной плотности хондроцитов до $172,48 \pm 4,51$ в 1 мм^2 .

Выводы. Снижение численной плотности хондроцитов при экспериментальном посттравматическом артрите способствует формированию необратимых деструктивных изменений в суставном хряще. Деструктивные изменения преобладают в поверхностной и промежуточной зонах хряща и связаны с дегенеративным перерождением синовиальной оболочки, сопровождающимся увеличением толщины ее покровного слоя.

Ключевые слова: остеоартроз, суставной хрящ, морфометрия, численная плотность хондроцитов

Синовиальная оболочка, синовиальная жидкость и суставной хрящ формируют специфическую внутреннюю синовиальную среду сустава как органа, обеспечивающего локомоторные возможности организма. Функциональное состояние сустава зависит от целостности составляющих его структурных элементов, метаболического статуса, эндокринной и иммунной систем организма, васкуляризации субхондральной кости и синовиальной оболочки, а также биомеханической нагрузки и действия различных повреждающих факторов. Любое нарушение синовиального гомеостаза влечет за собой те или иные изменения в суставном хряще [8, 9].

Травма сустава сопровождается формированием каскада патологических процессов, индуцирующих острую воспалительную реакцию хряща и синовиальной оболочки, а также развитие структурно-функциональных нарушений, приводящих к посттравматическому остеоартрозу [4, 9]. Нарушается биосинтетическая актив-

ность хондроцитов, в результате чего образуется короткоцепочный нефибриллярный коллаген, что значительно снижает регенеративные возможности хряща [7, 8]. Большое значение имеет активация перекисного окисления липидов, продукты липопероксидации усугубляют деструкцию хондроцитов и межклеточного матрикса суставного хряща, поддерживают течение хронического воспаления. Фрагменты коллагена и протеогликаны, попадая при деструкции хряща в синовиальную жидкость, способствуют развитию иммунопатологических реакций в синовиальной оболочке [2, 5]. Несмотря на многочисленные исследования в области данной патологии, остается малоизученной морфологическая основа структурно-функциональных нарушений, формирующихся в суставе после его травматического повреждения, что является важным для определения прогноза и тактики лечения [6].

Цель работы — гистологическое и морфометрическое исследование структур сустава в норме

Сведения об авторах:

Захватов Алексей Николаевич (e-mail: zachvatan78@mail.ru), Захаркин Илья Александрович, Чекмаева Анна Аркадьевна, кафедра общей хирургии им. проф. Н. И. Атясова, Тарасова Татьяна Викторовна, кафедра нормальной и патологической физиологии, Медицинский институт ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68

и сравнительном аспекте с изменениями, формирующимися после моделирования травматического повреждения.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 42 белых нелинейных крысах обоего пола массой 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева». Исследования были одобрены локальным этическим комитетом Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарева» (протокол № 44 от 18.11.2016 г.).

Животные были разделены на 2 группы. Первую составили интактные животные в количестве 12 крыс. Во второй группе (30 животных) под комбинированной анестезией (золетил 100 в дозе 0,05 мг/кг и силасина гидрохлорид в дозе 1 мг/кг внутримышечно) моделировали повреждение коленного сустава механическим путём в модификации Г. М. Дубровина [3]. В асептических условиях рассекали кожу и капсулу сустава. В полость сустава вводили иглу Дюфо, обточенную под углом 90° и ориентированную на хрящ внутреннего мыщелка бедренной кости. Винчивающими движениями перфорируют суставной хрящ до упора в субхондральную кость, затем иглу удаляли. Получение фрагмента суставного хряща контролировали мандреном. Швы на рану накладывали через все слои. Исследования проводили на 3-, 15-, 28-е сутки. Из эксперимента животных выводили под наркозом путем декапитации. У экспериментальных животных исследовали макроскопическую структуру полости сустава. Гистологическим методом изучали морфологию суставного хряща, синовиальной оболочки и субхондрального слоя костной ткани. Материал декальцинировали в трилоне Б, фиксировали в 10% растворе формалина и заключали в парафин. Серийные срезы окрашивали гематоксилином — эозином. С целью изучения структуры экстрацеллюлярного матрикса, для визуализации деструкции гликозаминогликанов хряща в виде очагов метахромазии производили окраску срезов тиозиновым красителем — метиленовым синим. С гистологических препаратов на микроскопе HUMASCOPE ADVANCED LED (Human GmbH, Германия) были сделаны микрофотографии цифровой фотокамерой Human GmbH (USB) 8,0 Мпикс (Human GmbH, Германия). Морфометрическое исследование суставного хряща и синовиальной оболочки проводили после оцифровки препаратов с помощью программного комплекса Image J for Windows при конечном увеличении в 400 раз. Измеряли толщину хряща и покровного слоя синовиальной оболочки. Численную плотность хондроцитов оценивали с помощью закрытой тестовой системы известной площади (1 мм²), состоящей из 81 точки по методике Г. Г. Автандилова (1990) в 10 полях зрения [1]. За норму принимали сустав интактного животного.

Статистическую обработку количественных данных осуществляли с помощью статистического пакета MS Excel 2007 и пакета прикладных программ Statistica 6.0. Вычисляли среднее значение (M) и ошибку среднего (m). Результаты исследования представлены в виде значений M±m. При сравнении групп использовали параметрический критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты исследования. При макроскопическом исследовании коленного сустава у группы интактных животных гиалиновый хрящ был гладким и блестящим, розоватого цвета,

упругим по структуре, прочно фиксирован к субхондральной кости. Суставные поверхности не разволокнены. Морфологически в суставном хряще определялись 3 основные структурные зоны: поверхностная, промежуточная и глубокая. Базальная линия отделяла обызвествленный хрящ от подлежащей субхондральной кости. Субхондральная кость переходила в хорошо васкуляризованную трабекулярную часть эпифиза. В межтрабекулярных промежутках содержался красный костный мозг (рис. 1).

При окраске метиленовым синим межклеточное вещество хряща окрашивалось гомогенно во всех зонах, очаги метахромазии не визуализировались. Покровный слой синовиальной оболочки представлен фибробластоподобными синовиоцитами, располагающимися в 1–2 слоя, коллагеново-эластический слой имел волокнистое строение без воспалительных изменений (таблица).

На 3-и сутки после моделирования травматического повреждения коленного сустава определялись отек мягких тканей, нарушение опорной функции конечности. При артротомии выделялась жидкость синовиально-геморрагического характера. В проекции медиального мыщелка визуализировался округлый дефект. Отмечалась гиперемия синовиальной оболочки. Микроскопически в области медиального мыщелка был выявлен глубокий дефект, достигающий до субхондральной кости, заполненный хрящевым детритом, содержащим хондроциты с явлениями кариопикноза и кариорексиса. Гистоархитектоника и вертикальная столбчатость лакун хондроцитов промежуточной зоны была сохранена, отмечалось набухание структур. Глубокая зона имела типич-

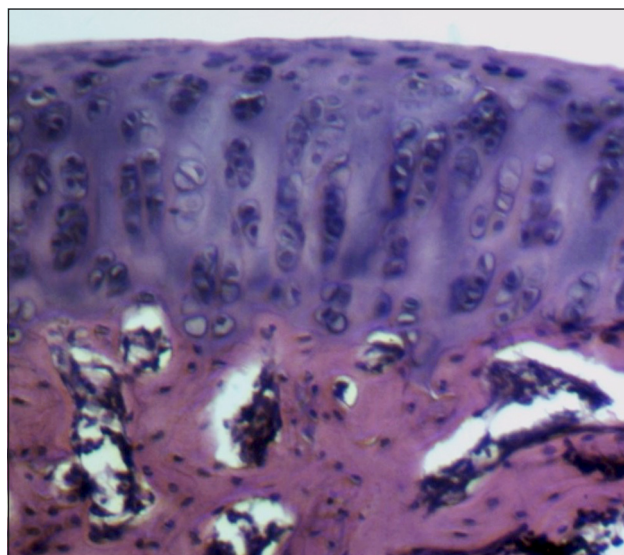


Рис. 1. Суставной хрящ коленного сустава крысы.

Интактная серия. Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 100

Морфометрические показатели суставного хряща и синовиальной оболочки коленного сустава при травматическом повреждении в эксперименте

Показатель	Интактные животные (n=12)	Подопытная серия, 28-е сутки (n=30)
Общая толщина хряща, мкм	181,38±3,14	248,14±3,91*
Поверхностная зона, мкм	24,47±0,92	48,45±0,71*
Промежуточная зона, мкм	87,31±1,89	112,12±1,77*
Глубокая зона, мкм	70,19±1,96	88,34±1,51*
Толщина покровного слоя синовиальной оболочки, мкм	18,21±0,24	49,36±0,82*
Численная плотность хондроцитов в 1 мм ²	218,17±5,76	172,48±4,51*

* p<0,001.

ное строение с колончатый расположением хондроцитов. Определялись истончение костных trabeculae, увеличение межтрабекулярных промежутков субхондральной кости медиального мыщелка. В синовиальной оболочке и капсуле сустава отмечались диффузная воспалительная клеточная инфильтрация, полнокровие с развитием агрегации и стаза эритроцитов.

К 15-м суткам эксперимента отек незначительно уменьшился, но нарушение функции конечности сохранялось. Макроскопически хрящ потерял блеск, имел тускло-желтоватый оттенок. Экспериментальный дефект увеличился в размерах, его дно было выстлано созревающей грануляционной тканью. Отмечались очаговое отслоение поверхностной бесклеточной пластинки в поверхностной зоне, дезорганизация хрящевой ткани, проявляющаяся разволокнением межклеточного матрикса, образованием узур. В промежуточной зоне лакуны хондроцитов располагались беспорядочно, обнаруживались пустые лакуны и дегенеративные изменения хондроцитов. В глу-

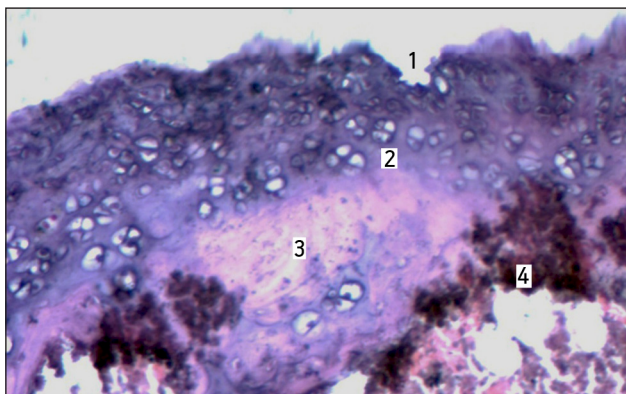


Рис. 2. Суставной хрящ коленного сустава крысы (подопытная серия, 28-е сутки эксперимента, травматическое повреждение сустава).

1 — разрушение бесклеточной пластинки с образованием узур; 2 — нарушение зональной структуры хряща, исчезновение колончатых структур; 3 — фибриллярные бесклеточные участки поверхностной и промежуточной зоны; 4 — формирование кист в субхондральной кости. Окраска гематоксилином — эозином. Ув. 100

бокой зоне было выявлено колончатое расположением хондроцитов с явлениями деструкции. Определялось неравномерное окрашивание базофильной линии с ее расслоением и истончением. В субхондральном слое прослеживались явления остеолита, признаки структурных нарушений кровообращения, развитие эндовакулитов. При окраске метиленовым синим в поверхностной и промежуточной зонах хряща прослеживались очаги метахромазии (снижение интенсивности, очаговое окрашивание), разволокнение межклеточного вещества с явлениями демаскировки коллагеновых волокон.

На 28-е сутки определялась стойкая сгибабельная контрактура в поврежденном суставе, при передвижении животные хромали и щадили травмированную конечность. Макроскопически суставные поверхности хряща были желтоватого цвета с синюшными пятнами, без блеска, синовиальная жидкость — мутная. Травматический дефект заполнялся фиброзной тканью с разрастаниями, выходящими за его пределы, изменяя конгруэнтность суставных поверхностей. Микроскопически в области дефекта было обнаружено разрастание соединительной ткани с формированием большого количества фиброзных сращений с окружающими структурными элементами сустава. В перифокальной области отсутствовала зональная структура хрящевой ткани, идентифицировались глубокие узур, доходящие до середины глубокой зоны. В поверхностной зоне отмечались отслоение поверхностной бесклеточной пластинки, разволокнение и фибриллярность коллагеновых волокон (рис. 2).

Местами бесклеточная пластинка полностью разрушена, и суставная поверхность представлена фибриллярными участками, преобладали хондроциты с пикнотичными ядрами и в состоянии гибели. Хондроциты промежуточной зоны располагались одиночно, имели аномальную форму с пикнотичными ядрами, отсутствовала колончатая структура, определялись запустевшие лакуны. Матрикс промежуточной зоны был

волокнистым, слабоэозинофильной окраски. Наблюдалось неравномерное окрашивание, расщепление базофильной линии в отдельных участках с нарушением ее целостности и проникновением сосудов со стороны субхондральной зоны в хрящ. В субхондральной кости обнаруживались признаки нарушения микроциркуляции, участки очагового остеосклероза с утолщением костных трабекул.

Полученные новые данные морфометрического исследования толщины суставного хряща при экспериментальном посттравматическом артрите позволили обнаружить значительное увеличение общей толщины хряща на 37,0 % ($p < 0,001$) по сравнению с серией интактных животных (см. таблицу). В связи с деградацией межклеточного матрикса, воспалительным отеком основного вещества и коллагеновых волокон увеличились все зоны хрящевого матрикса. Следует отметить более значительное вовлечение в патологический процесс поверхностной зоны хряща, толщина которой возросла на 98,0 % относительно нормы. Полученные данные обусловлены развивающимся внутрисуставным воспалением и повреждающим действием протеолитических ферментов, цитокинов, медиаторов воспаления и продуктов свободнорадикального окисления, продуцируемых иммунокомпетентными клетками, а также нарушением трофической функции синовиальной жидкости.

Проведенный морфометрический анализ численной плотности хондроцитов выявил значительное ее снижение на 21,1 % ($p < 0,001$), причем преимущественно в поверхностной и промежуточной зонах, что отражает угнетение регенеративных возможностей хряща (см. таблицу). При окраске метиленовым синим во всех слоях хряща отмечалась метахроматическая реакция в виде окрашивания разной степени выраженности. Обнаружение участков разволокнения коллагена связано с разрушением гликозаминогликанов внеклеточного матрикса хряща с демаскировкой волокон и развитием некротических изменений межклеточного вещества. В синовиальной оболочке определялась картина хронического посттравматического синовита в виде утолщения капсулы и синовиальной оболочки, фиброза синовиальных складок. В очагах гиперплазии преобладали макрофагальные синовиоциты, которые располагались в 3–4 слоя. Толщина покровного слоя синовиальной оболочки в 2,7 раза превышала показатель интактной серии животных (см. таблицу). Определялись явления тромбоза и ангиоматоза сосудов субсиновиального слоя.

Обсуждение полученных данных. Гистологическое исследование хряща и синовиальной оболочки после экспериментального травматического повреждения сустава выявило формирование необратимых дегенеративно-деструктивных процессов в суставе, которые захватывали все слои хряща, распространялись далеко от повреждения и преобладали в поверхностной зоне. Полученные результаты к 28-м суткам эксперимента свидетельствовали о нарушении структурно-функциональной организации сустава, характеризующимся разрушением суставных поверхностей, формированием глубоких узур, дезорганизацией и деструкцией коллагеновых фибрилл, развитием склероза синовиальной оболочки, уменьшением численной плотности хондроцитов. Формирование подобных необратимых дегенеративно-деструктивных посттравматических изменений суставов отражено в работах ряда авторов [3, 8]. Выявленные морфологические изменения в суставе соответствовали III–IV степени остеоартроза, согласно гистологической классификации Международного общества изучения остеоартроза OARSI [10].

Полученные новые данные морфометрического анализа общей толщины хряща и его зон после экспериментального травматического повреждения сустава свидетельствовали о значительном увеличении поверхностной зоны суставного хряща относительно нормы преимущественно за счет нарастающего отека и разволокнения коллагеновых волокон вследствие деструкции гликозаминогликанов, определяемых при окраске тиозиновым красителем.

Изменения внеклеточного матрикса формировались на фоне значительного снижения численной плотности хондроцитов, играющих главную роль в репаративной регенерации хряща.

Структурно-функциональные нарушения в суставе определялись на фоне хронического посттравматического синовита и развивающихся дегенеративных процессов синовиальной оболочки, проявляющихся фиброзом синовиальных складок, тромбозом сосудов субсиновиального слоя, что сопровождалось значительным увеличением толщины ее покровного слоя (в 2,7 раза). Вследствие этого нарушается трофика хряща и синовиальной оболочки, а повреждающее действие высвобождающихся протеолитических ферментов, цитокинов, медиаторов воспаления и продуктов свободнорадикального окисления на хондроциты и внеклеточный матрикс замыкают формирующийся порочный круг.

Результаты исследования имеют большое практическое значение, так как обосновыва-

ют необходимость разработки принципиально новых методов воздействия на предикторы посттравматической альтерации хряща и синовиальной оболочки в ранние сроки после повреждения, направленные на предупреждение развития необратимых деструктивно-дистрофических изменений в суставе и профилактику остеоартроза.

Таким образом, снижение численной плотности хондроцитов при экспериментальном посттравматическом артрите к 28-м суткам способствует формированию необратимых деструктивных изменений в суставном хряще, что обусловлено угнетением репаративных процессов и нарушением метаболизма внеклеточного матрикса хряща. Деструктивные изменения преобладают преимущественно в поверхностной и промежуточной зоне хряща и связаны с дегенеративным перерождением синовиальной оболочки, сопровождающимся значительным увеличением толщины покровного слоя и развитием хронического посттравматического синовита.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: А. Н. З.

Сбор и обработка материала: А. Н. З., Т. В. Т., И. А. З.

Статистическая обработка данных: И. А. З., А. А. Ч.

Анализ и интерпретация данных: А. Н. З., Т. В. Т.

Написание и редактирование текста: А. Н. З.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с. [Avtandilov G.G. Medical morphometry. Moscow: Meditsina, 1990. 384 p. In Russ.].
2. Балабанова Р.М. Роль иммунного воспаления в патогенезе остеоартроза, возможности коррекции иммунных нарушений // Современная ревматология. 2011. № 4. С. 74–78 [Balabanova R.M. Role of immune inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis and possibilities of correction of immune impairments // Sovremennaya revmatologiya. 2011. № 4. P. 74–78. In Russ.].
3. Дубровин Г.М., Блинков Ю.А., Нетяга С.В., Нетяга А.А. Обоснование применения миелопида для профилактики посттравматического остеоартроза (экспериментальное исследование) // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н.Приорова. 2005. № 2. С. 60–62 [Dubrovin G.M., Blinkov Yu.A., Netyaga S.V., Netyaga A.A. Basing of myelopide use for prevention of posttraumatic osteoarthritis (experimental study) // Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N.Priorova. 2005. № 2. P. 60–62. In Russ.].
4. Захватов А.Н., Кузнецов С.И., Сафонов В.Ю., Дудоров И.И., Аткина Н.А. Исследование хемилуминесценции продуктов перекисного окисления липидов при посттравматическом артрите в эксперименте // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». 2014. Т. 16, № 10. С. 5–7 [Zakhvatov A.N., Kuznetsov S.I., Safonov V.Yu., Dudorov I.I., Atkina N.A. Research of the chemiluminescence of products of lipid peroxidation in the post-traumatic arthritis in the experiment // Elektronnyi nauchno-obrazovatel'nyi vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke». 2014. Vol. 16, № 10. P. 5–7. In Russ.].
5. Кабалык М.А. Особенности ремоделирования субхондральной кости при остеоартрозе с коморбидностью // Вестн. современной клин. медицины. 2016. Т. 9, № 4. С. 27–32 [Kabalyk M.A. Special features of remodeling of the subchondral bone in osteoarthritis with comorbidity // Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny. 2016. Vol. 9, № 4. P. 27–32. In Russ.].
6. Куляба Т.А., Брянская А.И., Корнилов Н.Н., Селин А.В. Лечение локального глубокого дефекта хряща коленного сустава, сочетающегося с медиальным гонартрозом I стадии и варусной деформацией нижней конечности // Травматол. и ортопед. России. 2011. № 1. С. 92–95 [Kulyaba T.A., Bryanskaya A.I., Kornilov N.N., Selin A.V. Treatment of local deep defect of a knee joint cartilage combined with I stage medial gonarthrosis and varus deformation of the lower extremity // Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2011. № 1. P. 92–95. In Russ.].
7. Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Молекулярные механизмы развития остеоартроза // Лечебное дело. 2015. № 3. С. 86–92 [Mustafin R.N., Husnutdinova E.K. Molecular mechanisms of osteoarthritis development // Lechebnoe delo. 2015. № 3. P. 86–92. In Russ.].
8. Новочадов В.В., Крылов П.А., Зайцев В.Г. Неоднородность строения гиалинового хряща коленного сустава у интактных крыс и при экспериментальном остеоартрозе // Вестн. ВолГУ. Серия 11. Естественные науки. 2014. № 4. С. 7–16 [Novochadov V.V., Krylov P.A., Zaycev V.G. Clusterization of knee joint hyaline cartilage of intact rats and rats with experimental osteoarthritis // Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 11. Estestvennye nauki. 2014. № 4. P. 7–16. In Russ.].
9. Федоров В.Г. Структурная единица «синовиальный сустав» и основные принципы лечения остеоартроза и других дегенеративных заболеваний синовиального сустава // Успехи современного естествознания. 2015. № 1. С. 594–600 [Fedorov V.G. The structural unit «synovial joint» and the main principles of the treatment of osteoarthritis and other degenerative diseases of synovial joint // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2015. № 1. P. 594–600. In Russ.].
10. Pritzker K.P.H., Gay S., Jimenez S.A., Ostergaard K., Pelletier J.P., Revell P.A., Salter D., Path F.R.C., Berg W.B. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging // Osteoarthritis and Cartilage. 2006. Vol. 14, № 1. P. 13–29.

Поступила в редакцию 23.12.2017
Получена после доработки 30.08.2018

HISTOMORPHOMETRIC CHANGES OF THE KNEE JOINT CARTILAGE AND SYNOVIAL MEMBRANE IN THE FORMATION OF EXPERIMENTAL POSTTRAUMATIC OSTEOARTHRITIS

A. N. Zakhvatov¹, T. V. Tarasova², I. A. Zakharkin¹, A. A. Chekmayeva¹

Objective — histological and morphometric examination of joint structures in the normal state and after the modeling of traumatic injury.

Materials and methods. The knee joint injury was modelled in 30 outbred albino rats. During the course of experiment, the morphology of the joint tissues was studied, the thickness of the

cartilage and synovial membrane, and the numerical density of chondrocytes were evaluated morphometrically.

Results. The irreversible degenerative-destructive processes, which affected all the layers and predominated in the tangential (superficial) and transitional (intermediate) zones, were revealed in the synovial membrane and in the cartilage.

It was found that the total thickness of the cartilage increased to $248.14 \pm 3.91 \mu\text{m}$, that of the synovial intima — up to $49.36 \pm 0.82 \mu\text{m}$, and the numerical density of chondrocytes decreased to 172.48 ± 4.51 per 1 mm^2 .

Conclusions. The decrease in the numerical density of chondrocytes in experimental posttraumatic arthritis contributes

to the development of irreversible destructive processes in the articular cartilage. Destructive changes prevailed in the superficial and intermediate zones of the cartilage and were associated with degenerative transformation of the synovial membrane, accompanied by an increase in the thickness of the synovial intima.

Key words: *osteoarthritis, articular cartilage, morphometry, numerical density of chondrocytes*

¹ N. I. Atyasov Department of General Surgery, ² Department of Normal and Pathological Physiology, N. P. Ogarev National Research Mordovia State University; 68 Bolshevistskaya St., Saransk 430005, Russian Federation