

УДК:611.611:616.61-006

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯДРЫШКОВЫХ
ОРГАНИЗАТОРОВ ПРИ РАКЕ ПОЧКИ: ВЗАИМОСВЯЗЬ
С ГИСТОЛОГИЧЕСКИМ СТРОЕНИЕМ ПЕРИТУМОРОЗНОЙ ЗОНЫ**

**Бобров И.П., Черданцева Т.М., Климачев В.В., Брюханов В.М., Лазарев А.Ф.,
Авдалян А.М., Гервальд В.Я., Таранина Т.С.**

*ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»;
Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Барнаул, e-mail: drakon@agmu.ru*

Изучены особенности гистологического строения перитуморозной зоны (ПЗ), а также биосинтетических и пролиферативных процессов в тканях, прилежащих к раку почки, в зависимости от активности ядрышковых организаторов (AgNOR) клеток опухоли. В ПЗ опухолей, содержащих большое число AgNORs, обнаруживались активные склеротические и пролиферативные процессы. В зонах склероза в ПЗ были отмечены очаги выраженной дисплазии тубулярного эпителия, которые при микроспектрофотометрии ДНК были неотличимы от рака. Также в ПЗ данных опухолей обнаруживались явления активного опухолевого неангиогенеза. Высокая плотность сосудов микроциркуляции соотносилась с повышением темпа пролиферации эндотелия (по данным серебрения AgNOR).

Ключевые слова: рак почки, перитуморозная зона, ядрышковый организатор, ангиогенез

**MORPHOFUNCTIONAL ACTIVITY OF NUCLEOLAR ORGANIZERS
IN THE RENAL CELL CARCINOMA: INTERRELATION WITH HISTOLOGIC
STRUCTURE OF PERITUMOROUS ZONE**

**Bobrov I.P., Cherdantseva T.M., Klimachev V.V., Brjuhanov V.M., Lazarev A.F.,
Avdaljan A.M., Gervald V.J., Taranina T.S.**

*The Altay state of medical university, Barnaul;
The Altay branch «The Russian oncological centre of N.N. Blohina» of the Russian Academy
of Medical Science, Barnaul, e-mail: drakon@agmu.ru*

Was studied the histological structure of peritumorous zone (PZ) and also biosynthetic and proliferative processes in tissue adjacent to a renal cell carcinoma depending on activity of nuclear organizers (AgNOR) of cells tumour. In PZ of tumours containing great number AgNORs were found active sclerotic and proliferative processes. In sclerosis zones of PZ was founded high-grade dysplasia of the tubular epithelium which in microspectrophotometry DNA were indistinguishable from a cancer. Also in PZ this is tumours the active tumoral neovascularization were found out. The high density of vessels microcirculation corresponded with increase proliferation of endothelium (according to silvering AgNOR).

Keywords: renal cell carcinoma, peritumorous zone, nuclear organizers, angiogenesis

Актуальность исследования гистологического строения перитуморозной зоны (ПЗ) рака почки и нарушения течения биосинтетических процессов происходящих в ней, возникает в связи с распространением в хирургии опухолей почки органосохраняющей тактики [4].

Отсутствие целенаправленных патологоанатомических исследований по исследованию ПЗ рака почки позволяет ряду авторов говорить, что наличие макроскопически «чистого» хирургического края при выполнении резекции почки позволяет отказаться от срочного гистологического исследования, которое из-за большого количества ложноотрицательных и ложноположительных результатов должно выполняться по усмотрению оперирующего хирурга [7, 10]. Другие авторы напротив сообщают, что органосохраняющие операции опухолей, размер которых был меньше, чем 4 см, сопровождалась 27%-м уровнем инвазии в перитуморозную псевдокапсулу [12]. Так, Minervini A. и соавт. (2009) показали, что

увеличение размера опухоли даже на 1 см значительно увеличивали число случаев обнаружения роста опухолевых клеток в перитуморозной псевдокапсуле. С другой стороны, существует и другая крайность, когда оперирующие хирурги иссекают прилегающую паренхиму почки на расстоянии 3–4 см [2].

Есть основания полагать, что гистологическое строение ПЗ и биологическое поведение опухоли взаимосвязаны между собой. Так, Авдалян А.М. и соавт. (2010), по данным выявления белка CD31 и активности ядрышковых организаторов эндотелия, показали, что плотность микроциркуляторного русла (ПМЦР) ПЗ влияло на выживаемость больных лейомиосаркомой (ЛМС) матки в большей степени, чем ПМЦР в самой опухоли и ПМЦР ПЗ являлась независимым прогностическим фактором при ЛМС тела матки относительно стадии и степени злокачественности. Нашими исследованиями показано, что ПМЦР ПЗ рака почки была взаимосвязана с обнаружением

отдаленных метастазов, а наличие полиплоидии и анеуплоидии в карциномах почки приводило к появлению очагов пролиферации и дисплазии в эпителии канальцев перитуморозной области [1].

Общепризнано, что аргирофильные кислые негистоновые белки ядрышка С23 (нуклеолин) и В23 (нуклеофозмин) взаимосвязаны с пролиферативной активностью клетки и выявление данных белков, пожалуй, является единственным из доступных методов исследования скорости пролиферации клеточных элементов [11]. Поэтому было интересно изучить гистологическое строение ПЗ рака почки, в зависимости от активности ядрышковых организаторов опухолевых клеток.

Цель исследования: изучить особенности гистологического строения ПЗ, а также биосинтетических и пролиферативных процессов ее клеточных элементов, в зависимости от активности ядрышковых организаторов опухолевых клеток.

Материал и методы исследования

Изучен операционный материал 42 больных раком почки. Средний возраст пациентов составил $57,4 \pm 1,4$ года. Мужчин было 25 (59,5%), женщин – 17 (40,5%). По гистологическому строению опухоли были представлены следующим образом: светлоклеточный рак – 28; зернистоклеточный рак – 8; папиллярный рак – 5 и веретенноклеточный рак – 1. Материал забирали из центра опухоли, ПЗ (за ПЗ принимали непосредственно прилежащую в псевдокапсуле опухолевую ткань, псевдокапсулу и ткань расположенную за псевдокапсулой до неизменной ткани почки) и неизменной ткани почки, из максимально отдаленных от опухоли участков.

При группировке опухолей по клиническим стадиям (I–IV) было выделено: I стадии (T1N0M0) соответствовали 22 (52,4%) наблюдения; II стадии (T2N0M0) 1 (2,4%) наблюдение; III стадии (T1N1M0, T2N1M0, T3N0M0, T3N1M0) – 8 (19%) и IV стадии (T4N0M0, T4N1M0, TлюбаяN2M1, TлюбаяNлюбаяM1) – 11 (26,2%). Степень злокачественности клеток опухоли оценивали по Fuhrman S.A. et al., (1982) [8]. В нашем материале было 2 (4,8%) опухолей степени анаплазии G1; 11 (26,2%) опухолей степени анаплазии G2; 22 (52,4%) степени анаплазии G3 и 7 (16,7%) степени G4.

При анализе биосинтетических и пролиферативных процессов элементов перитуморозной зоны использовался комплексный подход с применением различных методов окраски: гистологических – окраска гематоксилином и эозином; гистохимических – окраска на коллаген по ван Гизон; на эластические волокна – резорцин – фуксином по Вейгерту; серебрение аргирофильных волокон по Гомори; на нейтральные гликозаминогликаны (ГАГ) ШИК – реакция по Мак – Манусу; на кислые ГАГ – окраска альциановым синим по Сидмену и коллоидным железом по Хейлу; на ДНК по Фельгену; на общие нуклеиновые кислоты по Эйнарсону и на активность аргирофильных белков, ассоциированных с областью ядрышковых организаторов (AgNOR) по Daskal Y и соавт. [6], в мо-

дификации авторов [5]. Подсчитывали среднее число гранул серебра (AgNORs) на 1 ядро клетки и строили гистограммы распределения популяций клеток по количеству AgNORs. В каждом случае исследовали 25–30 клеток.

Выделяли две группы исследования:

- 1) 5 и менее гранул AgNORs в опухолях;
- 2) более 5 гранул AgNORs в опухолях.

Также в каждом случае на масляной имерсии при увеличении $\times 1000$ рассчитывали плотность микроциркуляторного русла (ПМЦР) в 20 произвольно выбранных полях зрения.

Морфометрические и микроспектрофотометрические исследования проводили с использованием системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DME, цифровой камеры Leica EC3 («Leica Microsystems AG», Германия), персонального компьютера Pentium 4 и программного обеспечения ВидиоТест – Морфология 5.2. Пloidометрию ДНК проводили на гистологических срезах, окрашенных по Фельгену. Среднее содержание ДНК в ядрах малых лимфоцитов принимали за диплоидное (2c) и использовали в качестве стандарта. Для получения стандарта в каждом срезе оценивали 25–30 лимфоцитов. Затем в исследуемых клетках высчитывали индекс накопления ДНК (ИНДНК) в единицах плоидности (c) и строили гистограммы клонального распределения клеток по количеству генетического материала, выраженного в процентах.

Статистический анализ

Статистическую обработку материала проводили при помощи статистического пакета Statistica 6.0. При нормальном распределении данных при проверке статистических гипотез применяли методы параметрической статистики (t – test Стьюдента), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения (критерий Шапиро–Уилка $W = 0,89$, $p < 0,01$), то применяли методы непараметрической статистики: тест Колмогорова–Смирнова или U-тест Манна–Уитни. Данные считали достоверными при $p < 0,05$. Анализ зависимости между признаками проводили с помощью r -критерия Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение

В неизменном эпителии канальцев почки число гранул AgNORs составило $3,1 \pm 0,1$ на 1 ядро (рис. 1). В ядрах рака почки количество AgNORs колебалось от 1 до 68 и в среднем составило $9,6 \pm 0,3$ на 1 ядро.

В процессе исследования материал нами был распределен на 2 группы. В I группу вошли пациенты, опухоли которых содержали 5 и менее гранул AgNORs (в среднем $5,4 \pm 0,15$), а группу II составили больные, опухоли которых содержали более 5 гранул AgNORs (в среднем $15,6 \pm 0,5$). В I группу вошло 18 (42,95%) больных, во II группу – 24 (57,1%).

Для исследования процентного распределения популяций клеток по количеству гранул серебра для каждой группы были

построены гистограммы распределения. Гистограмма распределения ядер по количеству гранул серебра в I группе имела унимодальный характер с пиком в области популяции клеток, содержащий от 1 до 5 аргентофильных гранул (рис. 2, 3).

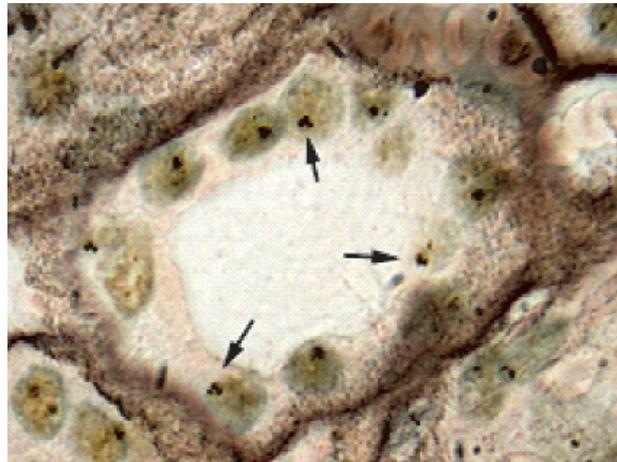


Рис. 1. Активность AgNOR в ядрах неизмененного эпителия канальцев почки (гранулы в ядрышках показаны стрелками). Окраска нитратом серебра, увеличение x 1000

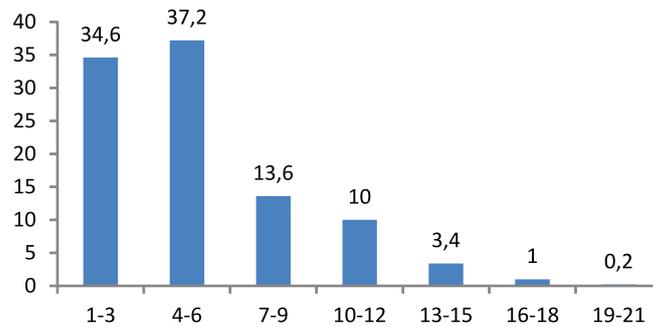


Рис. 2. Гистограмма, характеризующая распределение клеток опухолей по количеству AgNORs в группе I. По оси абсцисс – количество AgNORs; по оси ординат – процентное содержание клеток

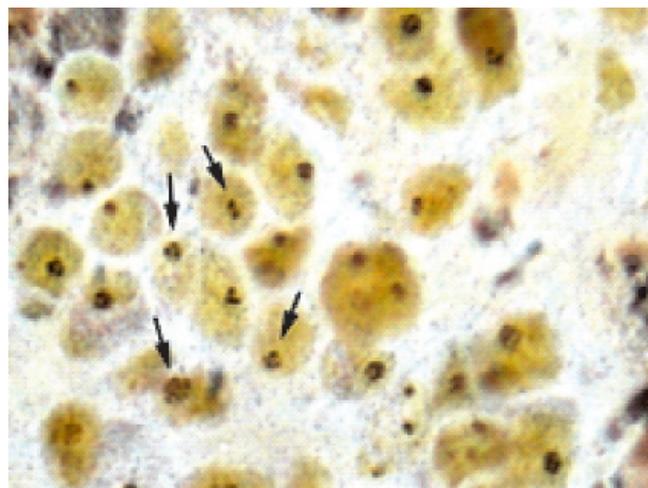


Рис. 3. Активность AgNOR в клетках опухолей пациентов I группы (гранулы в ядрышках показаны стрелками). Окраска нитратом серебра, увеличение x 1000

Иной вид имела гистограмма распределения ядер по числу гранул серебра на 1 ядро во II группе. Она была растянута вправо за счет клеток с высоким содержанием гранул. Другими особенностями ги-

стограммы являлись многовершинность и отсутствие высоких пиков, что отражает широкую вариабельность популяций клеточных элементов по содержанию гранул серебра (рис. 4, 5).

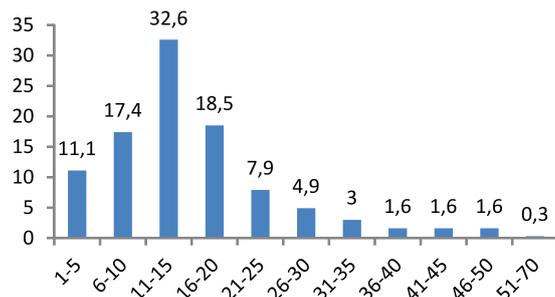


Рис. 4. Гистограмма, характеризующая распределение клеток опухолей по количеству AgNORs в группе II. По оси абсцисс – количество AgNORs; по оси ординат – процентное содержание клеток

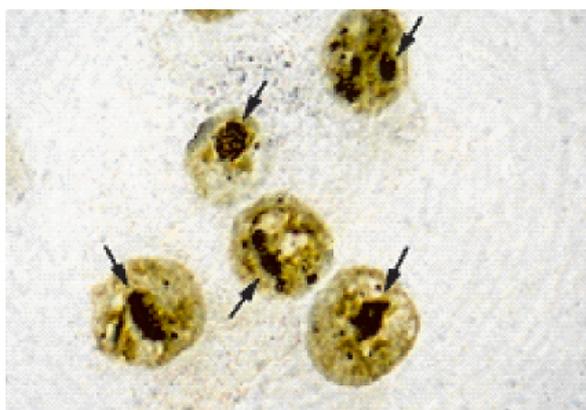


Рис. 5. Активность AgNOR в клетках опухолей пациентов II группы. AgNORs в ядрышках очень мелкие, на пределе видимости светового микроскопа (ядрышки показаны стрелками). Окраска нитратом серебра, увеличение $\times 1000$

ПЗ злокачественных новообразований почки имела различное гистологическое строение. Ширина ее колебалась от 152,5 до 2593,2 мкм и в среднем со-

ставляла – $954,7 \pm 89,5$. Размеры и гистологическое строение ПЗ зависели от активности AgNOR в опухолевых клетках (таблица).

Морфометрические параметры элементов ПЗ в зависимости от активности AgNOR опухоли

Параметры ПЗ	Число AgNORs в опухоли	
	5 и менее AgNORs	Более 5 AgNORs
Ширина перитуморозной зоны, мкм	$520,4 \pm 43,2^*$	$1320 \pm 73,6^*$
Площадь ядер эпителия канальцев, мкм ²	$37,9 \pm 2,0^*$	$54,2 \pm 5,3^*$
Площадь ядер миофибробластов, мкм ²	$33,5 \pm 2,2^*$	$66,7 \pm 3,2^*$
Плотность сосудов микроциркуляции	$5,9 \pm 0,5^*$	$8,9 \pm 0,6^*$
Число AgNORs в ядрах миофибробластов	$1,5 \pm 0,2^*$	$2,8 \pm 0,4^*$
Число AgNORs в ядрах эпителия канальцев	$2,2 \pm 0,2^*$	$5,15 \pm 0,35^*$
Число AgNORs в ядрах эндотелия	$1,7 \pm 0,1^*$	$3,5 \pm 0,4^*$

Примечание: * – $p < 0,05$.

Так, у опухолей больных I группы ширина ПЗ в среднем составила $520,4 \pm 43,2$ мкм. В ПЗ отмечались явления умеренно выраженного склероза. Коллагеновые волокна при окраске по ван Гизону в таких ПЗ окрашивались в розоватый цвет с участками желтого, в то же время волокна коллагена были ШИК-позитивны при реакции по Мак–Манусу на нейтральные ГАГ. Кислые

ГАГ в соединительной ткани не обнаруживались, но определялись в стенках сосудов. При окраске на эластические волокна резорцином-фуксином по Вейгерту отмечено небольшое число тонких извитых волокон, эластические мембраны на границе с опухолью обнаруживались лишь на некоторых участках. В пучках коллагеновых волокон определялись тонкие «штопоробразные»

аргиروفильные волокна. Плотность лимфо-плазмоцитарной инфильтрации была слабой или умеренной.

У пациентов II группы ширина ПЗ опухолей в среднем составила $1320,3 \pm 73,6$ мкм. Отмечались явления выраженного склероза. При окраске по ван Гизон в таких ПЗ обнаруживалась выраженная фуксинофилия коллагеновых волокон, волокна давали интенсивную ШИК-реакцию при окраске по Мак-Манусу на нейтральные ГАГ. При окраске на эластические волокна резорцином-фуксином по Вейгерту отмечено большое число тонких извитых волокон интенсивной сиреневой окраски, также отмечались толстые эластические мембраны на границе между опухолевой тканью и ПЗ. Аргиروفильные волокна были утолщены, на границе ПЗ с опухолью они образовывали сплетения и мембраны. Кислые ГАГ отмечали в значительном количестве в зонах обнаружения эластических волокон. Плотность лимфо-плазмоцитарной инфильтрации в ПЗ была умеренной или высокой, часто были видны фолликулоподобные структуры.

В ПЗ, в различном количестве, обнаруживались элементы канальцевого аппарата почки. В I группе ядра клеток эпителия канальцев были округлой формы, небольшого размера, гиперхромность отсутствовала. Площадь клеточного ядра составила $37,9 \pm 2,0$ мкм². Клетки располагались на тонкой ШИК-положительной базальной мембране. Количество AgNORs в ядрах составило в среднем $2,2 \pm 0,2$ на 1 ядро.

В ПЗ II группы исследования почечных канальцев было значительно больше, они располагались в плотной соединительной

ткани и содержали небольшое число клеточных элементов. Такие канальцы были окружены резко ШИК-положительной базальной мембраной. При окраске нитратом серебра по Гомори базальная мембрана выглядела утолщенной. Клетки нефротелия имели признаки атипизма: полиморфизм и гиперхромия ядра, увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, большое количество общих НК. Площадь клеточного ядра в среднем составила $54,2 \pm 5,3$ мкм². Число AgNORs в ядрах клеток достигало $5,15 \pm 0,35$ на 1 ядро. В участках таких видоизмененных канальцев невозможно было дифференцировать различные отделы нефрона.

При микроспектрофотометрическом исследовании ДНК в клетках эпителия канальцев ПЗ в I группе исследования содержание ДНК составило $3,6 \pm 0,1$ с, что может говорить о гиперпластических и пролиферативных процессах, происходящих в эпителии. Гистограмма распределения клеток по количеству ДНК для этой группы характеризовалась пиками на уровнях 3 и 4 с. Во II группе пациентов было обнаружено увеличение среднего содержания ДНК до $5,3 \pm 0,1$ с, что свидетельствует о тяжелой дисплазии. Увеличение среднего содержания ДНК в клетках сопровождалось нарастанием гетерогенности популяций по содержанию генетического материала, явлениями анеуплоидии и полиплоидии и возникновением клонов, содержащих 6 и 7 с ДНК, что свидетельствует о нарастающей генетической нестабильности эпителия. Данные гистограммы были неотличимы от гистограмм рака (рис. 6).

Морфометрические параметры элементов ПЗ в зависимости от плоидности опухоли

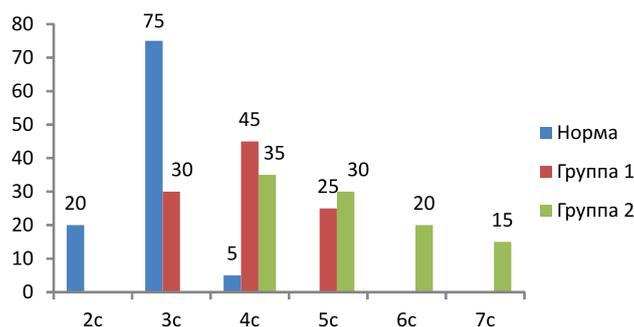


Рис 6. Гистограмма распределения ДНК в ядрах почечного эпителия в норме и перитуморозной зоне диплоидных и полиплоидных опухолей. По оси абсцисс – количество ДНК (в единицах плоидности); по оси ординат – количество клеток (в процентах)

Ядра клеток миофибробластического ряда ПЗ I группы пациентов имели удлиненную волнообразную форму. Площадь ядра в среднем составила – $32,4 \pm 2,2$ мкм². Число AgNORs составило $1,5 \pm 0,2$ на 1 ядро. Такие клетки нами были отнесе-

ны к зрелым малоактивным фиброцитам. В группе II клетки миофибробластического ряда имели увеличенные ядра. Площадь ядра в среднем составила $66,7 \pm 3,2$ мкм². Число AgNORs в таких клетках составило $2,8 \pm 0,4$ на 1 ядро. Данные клетки можно

отности к активно синтезирующим юным фибробластам.

При исследовании ПМЦР в ПЗ установлено вовлечение сосудов в патологический неангиогенез. В большинстве случаев новообразованные сосуды не имели мышечной оболочки, имели трубчатое или лакунарное строение и были образованы одним слоем эндотелиоподобных клеток. В ПЗ I группы ПМЦР составила $-5,9 \pm 0,5$, во II группе $-8,9 \pm 0,6$. Также отмечали возрастание числа AgNORs до $1,7 \pm 0,1$ в эндотелии новообразованных сосудов ПЗ I группы, по сравнению со II группой ($3,5 \pm 0,4$). В собственных сосудах почки, которые также в небольшом количестве находили в ПЗ обеих групп, отмечали явления выраженного эластофиброза и гиалиноза, с сужением либо облитерацией просвета. ПМЦР в ПЗ коррелировала с наличием региональных и отдаленных метастазов ($r = 0,76$).

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что активность AgNOR клеток опухоли была взаимосвязана с гистологическим строением ПЗ рака почки. При этом можно говорить о сонаправленности процессов пролиферации (по данным измерения ДНК) и активности рибосомально-го синтеза в опухолевых клетках (по данным серебрения AgNOR), которая, как известно, характеризует скорость пролиферации.

По нашему мнению, полученные данные имеют не только теоретическое значение, но и практический интерес. Мы считаем, что при органосохраняющих операциях следует проводить более тщательную ревизию хирургического края опухолей с высокой активностью AgNORs (более 5 гранул). Высокая активность ангиогенеза в ПЗ опухолей с большим содержанием AgNOR должна обуславливать настороженность в отношении кровотечения. Четкая псевдокапсула опухоли, наличие которой, как известно, является показанием в органосохраняющей операции, может быть обусловлена выраженным склерозом, что может затруднить выделение опухоли. С другой стороны, наличие четкой и широкой капсулы (по данным инструментальных методов исследования) может говорить о высокой степени клеточной градации опухоли.

Интересным, на наш взгляд, является тот факт, что опухоли с небольшим количеством гранул (5 и менее) характеризовались низкой степенью анаплазии (G1–G2) и малым размером (около 4 см). Инвазии в ПЗ, склероза и дисплазии в таких опухолях нами не обнаружено, а ширина ПЗ в опухолях была небольшой (около 0,5 см). По нашему мнению,

это следует учитывать при органосохраняющих операциях и ограничиться иссечением прилегающей к опухоли паренхимы почки в пределах, не превышающих 0,5–1 см.

Таким образом, исследование строения ПЗ в зависимости от активности AgNOR может иметь не только фундаментальный, но и практический интерес.

Список литературы

1. Гистологическое строение и некоторые особенности биосинтетических и пролиферативных процессов в перитуморозной зоне рака почки в зависимости от плоидности опухоли / Т.М. Черданцева, И.П. Бобров, В.В. Климачев, В.М. Брюханов, А.Ф. Лазарев, А.М. Авдальян, В.Я. Гервальд // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – №9. – С. 553–557.
2. Переверзев А.С., Щукин Д.В., Щербак А.Ю. Органосохраняющие операции при почечно-клеточном раке // *Онкоурология*. – 2009. – №2. – С. 22–30.
3. Прогностическое значение исследования сосудов микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморозной зоне по данным выявления белка CD31 и количества аргирофильных белков области ядрышкового организатора (AgNOR) в эндотелии при лейомиосаркоме тела матки / А.М. Авдальян, И.П. Бобров, В.В. Климачев, Н.М. Круглова, А.Ф. Лазарев // *Фундаментальные исследования*. – 2010. – №5. – С. 12–20.
4. Роль органосохраняющего хирургического лечения рака почки на современном этапе / В.Б. Матвеев, Б.П. Матвеев, М.И. Волкова, Д.В. Перлин, К.М. Фигурин // *Онкоурология*. – 2007. – №2. – С. 5–11.
5. Модификация гистохимического метода выявления ядрышковых организаторов на гистологических срезах / И.П. Бобров, А.М. Авдальян, В.В. Климачев, А.Ф. Лазарев, В.Я. Гервальд, А.Ю. Долгатов, О.В. Самуйленкова, М.В. Ковригин, Д.С. Кобыяков // *Архив патологии*. – 2010. – Т. 72, №3. – С. 35–37.
6. Daskal Y., Smetana K., Buch H. Evidence from studies on segregated that nucleolar silver stained proteins C23 and B23 are in fibrillar components // *Exp.* – 1980. – Vol. 127. – P. 285–291.
7. Duvdevani M., Laufer M., Kastin A. Urology. Is frozen section analysis in nephron sparing surgery necessary? A clinicopathological study of 301 cases. // *J. Urol.* – 2005. – Vol. 173, №2. – P. 385–387.
8. Fuhrman S.A., Lasky L.C., Limas C. Prognostic significance of morfologic parameters in renal cell carcinoma // *Am. J. Surg. Pathol.* – 1982. – Vol.6. – P. 655–663.
9. Histopathologic analysis of peritumoral pseudocapsule and surgical margin status after tumor enucleation for renal cell carcinoma / A. Minervini, C. Cristofano, A. Lapini, M. Marchi, F. Lanzi, G. Giubilei, N. Tosi, A. Tuccio, M. Mancini, C. Rocca, S. Semi, G. Bevilacqua, M. Carini // *Eur Urol.* – 2009. – Vol. 55. – P. 1410–1418.
10. Utility of frozen section analysis of resection margins during partial nephrectomy / D.J. Kubinski, P.E. Clark, D.G. Assimos, M.C. Hall // *Urology*. – 2004. – Vol. 64. – P. 31–34.
11. Montanaro L., Trete D., Derenzini M. Nucleolus, ribosomes, and cancer // *Am. J. Path.* – 2008. – Vol. 173. – P. 301–310.
12. Optimal margin in nephron – sparing surgery for renal cell carcinoma 4 cm or less / Q.L. Li, H.W. Guan, L.Z. Zhang, F.P. Wang, Y.J. Lie // *Eur Urol.* – 2003. – Vol. 44. – P. 448–451.

Рецензенты:

Высоцкий Ю.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной анатомии человека ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул;

Калачев Е.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой анатомии, физиологии и валеологии ГОУ ВПО «Алтайской государственной педагогической академии», г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 10.11.2011.