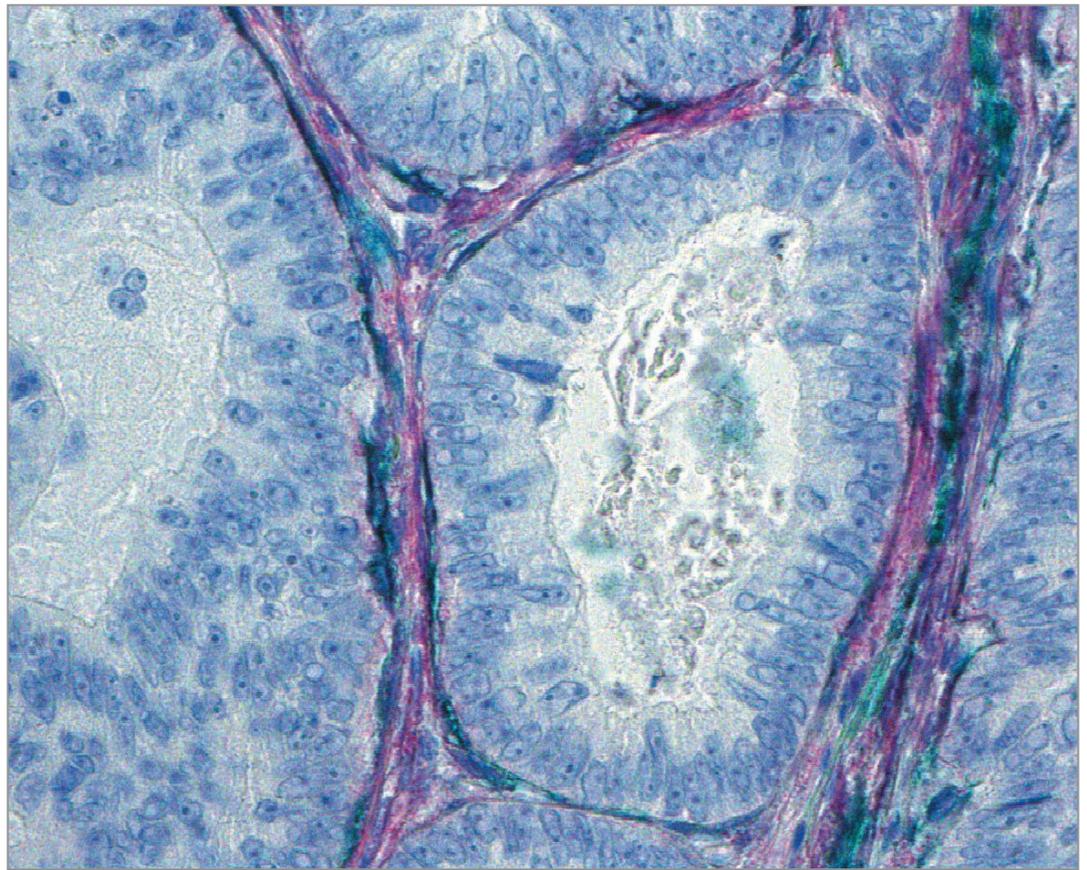


# АРХИВ ПАТОЛОГИИ АРКНІВ ПАТОЛОГІЇ



**4**

2020 Том 82

Основан в 1935 г.

# ПЕРВЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КАНАЛ

ОНЛАЙН ТЕЛЕВИДЕНИЕ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

ПЕРВЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КАНАЛ – СОВРЕМЕННЫЙ  
ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНЫЙ ПОМОЩНИК ВРАЧА  
В ЕЖЕДНЕВНОЙ ПРАКТИКЕ И НАДЕЖНЫЙ ИСТОЧНИК  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ИНФОРМАЦИИ

ДИСТАНЦИОННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ,  
ВКЛЮЧАЯ СИСТЕМУ НМО

ПРЯМОЕ ОБЩЕНИЕ С ЛЕКТОРАМИ В РЕЖИМЕ ON- И OFF-LINE

БОЛЕЕ 100 ТРАНСЛЯЦИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ  
КОНГРЕССОВ И ФОРУМОВ В ГОД

10-ЧАСОВОЙ РЕЖИМ ВЕЩАНИЯ 5 ДНЕЙ В НЕДЕЛЮ

РЕГИСТРИРУЙТЕСЬ НА САЙТЕ [WWW.1MED.TV](http://WWW.1MED.TV) И ПОЛУЧИТЕ ДОСТУП  
К БОГАТОЙ ВИДЕОБИБЛИОТЕКЕ КАНАЛА!

**1MED TV**

Реклама



@1MEDTV



ПЕРВЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КАНАЛ

☎ 8 800 100 17 86

✉ [INFO@1MED.TV](mailto:INFO@1MED.TV)

Российская академия наук

Российское общество патологоанатомов

«Архив патологии» — научно-практический рецензируемый медицинский журнал. Выходит 6 раз в год Основан в 1935 году

«Arkhirv patologii» (Archive of Pathology)

is a bimonthly peer-reviewed medical journal published by MEDIA SPHERA Publishing Group. Founded in 1935

Журнал представлен в следующих международных базах данных и информационно-справочных изданиях: РИНЦ (Российский индекс научного цитирования), Web of Science (BIOSIS Previews, Russian Science Citation Index — RSCI), Scopus/EMBASE, PubMed/Medline, Index Medicus, EBSCOhost, Ulrich's Periodicals Directory, Google Scholar.

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ журнал «Архив патологии» включен в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

**Издательство «Медиа Сфера»:**

127238 Москва,  
Дмитровское ш., д. 46, корп. 2, этаж 4  
Тел.: (495) 482-4329  
Факс: (495) 482-4312  
E-mail: info@mediasphera.ru  
www.mediasphera.ru

**Адрес для корреспонденции:**

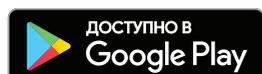
127238 Москва, а/я 54, Медиа Сфера  
Отдел рекламы: (495) 482-0604  
E-mail: reklama@mediasphera.ru  
Отдел подписки: (495) 482-5336  
E-mail: zakaz@mediasphera.ru

**Адрес редакции:**

125284 Москва, ул. Поликарпова, д. 12  
Тел.: (495) 946-0217  
E-mail: arh.pat@gmail.com  
Зав. редакцией И.Н. Соколова

Оригинал-макет изготовлен издательством «Медиа Сфера»  
Компьютерный набор и верстка:  
О.В. Ненашева, Е.Л. Коган,  
Корректор: О.М. Тарарина

*Рис. на обложке к статье Н.А. Олейниковой и соавт. «Гетерогенность опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке»*



Индексы по каталогу агентства «Роспечать»  
71406 — для индивидуальных подписчиков  
71407 — для предприятий и организаций  
Подписано в печать 24.07.20.  
Формат 60×90 1/8. Тираж 2000 экз.  
Усл. печ. л. 11. Заказ 20-Z-0951  
Отпечатано в ООО «МЕДИАКОЛОР»

# АРХИВ ПАТОЛОГИИ

## ARKHIRV PATOLOGII

Том 82

июль—август

4'2020

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор Г.А. Франк, акад. РАН

А.Ю. Абросимов, д.м.н., проф.

Ю.Ю. Андреева, д.м.н. (отв. секретарь)

Н.М. Аничков, член-корр. РАН

В.П. Быкова, д.м.н., проф.

И.Н. Волошук, д.м.н., проф. (отв. секретарь)

О.В. Зайратьянц, д.м.н., проф.

А.А. Иванов, д.м.н., проф.

Л.В. Кактурский, член-корр. РАН (зам. главного редактора)

А.И. Карселадзе, д.м.н., проф.

А.В. Кононов, д.м.н., проф.

Ю.А. Криволапов, д.м.н., проф.

Л.В. Леонова, д.м.н.

О.В. Макарова, д.м.н., проф.

П.Г. Мальков, д.м.н., проф.

Г.Н. Маслякова, д.м.н., проф.

А.П. Милованов, д.м.н., проф.

О.Д. Мишнев, д.м.н., проф.

Е.М. Пальцева, д.м.н., проф. РАН

С.А. Повзун, д.м.н., проф.

С.Г. Раденска-Лоповок, д.м.н., проф.

М.В. Рыжова, д.м.н.

Т.А. Федорина, д.м.н., проф.

А.Л. Черняев, д.м.н., проф.

### РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ф. Брэнтон (Бетесда, США)

И.С. Дерижанова (Ростов-на-Дону)

В. Ениш (Берлин, ФРГ)

Д.Д. Зербино (Львов, Украина)

Ю.Р. Зюзя (Москва)

А. Кваас (Кельн, ФРГ)

В.Л. Коваленко (Челябинск)

А.Г. Коршунов (Гейдельберг, ФРГ)

Г.И. Лазюк (Минск, Беларусь)

К. Лапиш (Будапешт, Венгрия)

А. Лломбарт-Бош (Барселона, Испания)

Б.А. Магрупов (Ташкент, Узбекистан)

Б. Натвани (Лос-Анджелес, США)

Ю.Н. Соловьев (Москва)

В.А. Туманский (Запорожье, Украина)

Д. Хармс (Киль, ФРГ)

Н.Г. Хостилян (Ереван, Армения)

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: www.mediasphera.ru. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя — издательства «Медиа Сфера».

**Russian Academy of Medical Sciences  
Russian Society of Pathologists**

Founded in 1935

«Arkhiv patologii» (Archive of Pathology)

is a bimonthly peer-reviewed medical journal  
published by **MEDIA SPHERA Publishing Group**.

The journal is presented in the following  
international databases and information reference  
editions: **RSCI (Russian Science Citation In-  
dex)**, **Web of Science (BIOSIS Previews, Russian  
Science Citation Index — RSCI)**,  
**Scopus/EMBASE, PubMed/Medline, Index  
Medicus, EBSCOhost, Ulrich's Periodicals  
Directory, Google Scholar.**

**In accordance with the resolution of the Higher At-  
testation Commission, Ministry of Education and  
Science of the Russian Federation, the journal «Arkh-  
iv Patologii» (Archives of Pathology) is included in the  
List of Leading Peer-Reviewed Journals and Periodi-  
cals issued in the Russian Federation, in which the  
main results of Candidate and Doctor Theses are rec-  
ommended to be published.**

**Media Sfera Publishing Group:**

46-2, Dmitrovskoe Sh., Floor 4  
Moscow 127238

Phone: 7 (495) 482-4329

Fax: (495) 482-4312

E-mail: [info@mediasphera.ru](mailto:info@mediasphera.ru)

[www.mediasphera.ru](http://www.mediasphera.ru)

**Correspondence address:**

Post office box 54, Media Sfera, Moscow 127238

Advertising department:

Phone: 7 (495) 482-0604

E-mail: [reklama@mediasphera.ru](mailto:reklama@mediasphera.ru)

Subscription department

Phone: 7 (495) 482-5336

E-mail: [zakaz@mediasphera.ru](mailto:zakaz@mediasphera.ru)

**Address of the Editorial Office:**

12, Polikarpov St., Moscow 125284

Phone: 7 (495) 946-0217

E-mail: [arh.pat@gmail.com](mailto:arh.pat@gmail.com)

Managing Editor: I.N. Sokolova

# ARKHIV PATOLOGII ARCHIVE OF PATHOLOGY

**Volume 82**

**July—August**

**4'2020**

A BIMONTHLY SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

## EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief G.A. Frank,  
Acad. of the Russian Academy of Sciences

Prof. A.Yu. Abrosimov, MD

Yu.Yu. Andreeva, MD (Executive Secretary)

N.M. Anichkov, Corr. Member of the Russian Academy of Sciences

Prof. V.P. Bykova, MD

Prof. I.N. Voloshchuk, MD (Executive Secretary)

Prof. O.V. Zairatyants, MD

Prof. A.A. Ivanov, MD

L.V. Kaktursky, Corr. Member of the Russian Academy of Sciences

(Deputy Editor-in-Chief)

Prof. A.I. Karseladze, MD

Prof. A.V. Kononov, MD

Prof. Yu.A. Krivolapov, MD

L.V. Leonova, MD

Prof. O.V. Makarova, MD

Prof. P.G. Malkov, MD

Prof. G.N. Maslyakova, MD

Prof. A.P. Milovanov, MD

Prof. O.D. Mishnev, MD

Prof. E.M. Paltseva, MD, Prof. of the Russian Academy of Sciences

Prof. S.A. Povzun, MD

Prof. S.G. Radenska-Lopovok, MD

M.V. Ryzhova, MD

Prof. T.A. Fedorina, MD

Prof. A.L. Chernyaev, MD

## EDITORIAL REVIEW BOARD

F. Branton (Bethesda, USA)

I.S. Derizhanova (Rostov-on-Don)

V. Enisch (Berlin, FRG)

D.D. Zerbino (Lvov, Ukraine)

Yu.R. Zyuzya (Moscow)

A. Kvaas (Cologne, FRG)

V.L. Kovalenko (Chelyabinsk)

A.G. Korshunov (Heidelberg, FGR)

G.I. Lazyuk (Minsk, Belarus)

K. Lapis (Budapest, Hungary)

A. Llombart-Bosch (Barcelona,  
Spain)

B.A. Magrupov (Tashkent,  
Uzbekistan)

B. Nathwani (Los Angeles, USA)

Yu.N. Solovyev (Moscow)

V.A. Tumansky (Zaporozhye,  
Ukraine)

D. Harms (Kiel, FRG)

N.G. Khostikyan (Yerevan, Armenia)

The Editorial Board is not responsible for the content of advertising materials. The opinion of authors may not coincide with that of the editorial board. Only the articles prepared in accordance with the instructions for authors are accepted for publication. When submitting an article to the Editorial Board, the authors accept the terms and conditions of the public offer agreement. The instructions for authors and the public offer agreement can be found on website: [www.mediasphera.ru](http://www.mediasphera.ru). Complete or partial reproduction of the materials published in the journal is allowed only by written permission of the publisher (MEDIA SPHERA Publishing Group).



**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

- Олейникова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Михайлов И.А., Мальков П.Г.*  
Гетерогенность опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке ..... 5
- Корочина К.В., Чернышева Т.В., Полякова В.С., Корочина И.Э.*  
Особенности морфологии суставного хряща пациентов с разными фенотипами остеоартроза коленных суставов ..... 13
- Коньшев К.В., Сазонов С.В.*  
Изменение экспрессии иммуногистохимических маркеров в регионарных метастазах рака молочной железы ..... 19
- Костерина Н.Е., Гринберг Л.М., Сенькин Г.С.*  
Вариабельность размеров клеток мелкоклеточного рака легкого по данным различных методов морфологического исследования «малых образцов» ..... 27

**В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ**

- Самсонова М.В., Михалева Л.М., Зайратьянци О.В., Варясин В.В., Быканова А.В., Мишнев О.Д., Березовский Ю.С., Тишкевич О.А., Гомзикова Е.А., Черняев А.Л., Хованская Т.Н.*  
Патология легких при COVID-19 в Москве ..... 32
- Раденска-Лоповок С.Г., Тимакова А.А., Кузин А.В., Мурылев В.Ю.*  
Алкаптонурия — морфологические изменения тканей суставов. Обзор литературы и собственные наблюдения ..... 41
- Швед Н.В., Плакса И.Л., Бучака А.С., Савелов Н.А., Деев Р.В.*  
Клинико-морфологический анализ трех случаев секреторной карциномы слюнной железы, ассоциированной со слиянием генов *ETV6—NTRK3* ..... 47
- Кузнецова О.А., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Демидова И.А., Гикало М.Б., Франк Г.А.*  
Значение выявления экспрессии белков TRK и перестроек в гене *NTRK3* в секреторной карциноме молочной железы. .... 53
- Данилова Н.В., Олейникова Н.А., Мальков П.Г.*  
Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 года, 5-е издание ..... 58

**МЕТОДИКА**

- Мухамадияров Р.А., Мильто И.В., Кутихин А.Г.*  
Идентификация иммунокомпетентных клеток в тканях при сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах ..... 70

**ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ**

- Ивина А.А., Родионов В.Э., Бабиченко И.И.*  
Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта ..... 79

**ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ**

- Франк Г.А., Кнопов М.Ш., Тарануха В.К.*  
К 90-летию Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования ..... 84

**ORIGINAL INVESTIGATIONS**

<i>Oleynikova N.A., Kharlova O.A., Danilova N.V., Mikhailov I.A., Malkov P.G.</i> Heterogeneity of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer .....	5
<i>Korochina K.V., Chernysheva T.V., Polyakova V.S., Korochina I.E.</i> Features of morphology of articular cartilage in patients with different phenotypes of knee osteoarthritis .....	13
<i>Konyshev K.V., Sazonov S.V.</i> Changes in expression of immunohistochemical markers in regional breast cancer metastases .....	19
<i>Kosterina N.E., Grinberg L.M., Senkin G.S.</i> Cell size variability of small cell lung cancer according to various methods of morphological studies of «small samples» .....	27

**GUIDELINES FOR THE PRACTITIONER**

<i>Samsonova M.V., Mikhaleva L.M., Zairatyants O.V., Varyasin V.V., Bykanova A.V., Mishnev O.D., Berezovsky Yu.S., Tishkevich O.A., Gomzikova E.A., Chernyaev A.L., Khovanskaya T.N.</i> Lung pathology of COVID-19 in Moscow .....	32
<i>Radenska-Lopovok S.G., Timakova A.A., Kuzin A.V., Murylev V.Yu.</i> Alkaptonuria — morphological lesions of articular tissues. Literature review and case report .....	41
<i>Shved N.V., Plaksa I.L., Buchak A.S., Savelov N.A., Deev R.V.</i> Clinical and morphological analysis of three cases of secretory salivary carcinoma associated with <i>ETV6—NTRK3</i> gene fusion .....	47
<i>Kuznetsova OA, Andreeva Yu. Yu., Zavalishina L.E., Demidova I.A., Gikalo M.B., Frank G.A.</i> Importance of detecting TRK protein expression and rearrangements in <i>NTRK3</i> gene in secretory carcinoma of the breast .....	53
<i>Danilova N.V., Oleinikova N.A., Malkov P.G.</i> 2019 WHO classification of gastric epithelial tumors, 5th edition .....	58

**METHODS**

<i>Mukhamadiyarov R.A., Milto I.V., Kutikhin A.G.</i> Identification of immunocompetent cells in tissues by scanning electron microscopy in backscattered electrons .....	70
--	----

**REVIEWS OF LITERATURE**

<i>Ivina A.A., Rodionov V.E., Babichenko I.I.</i> Clinical and morphological features of oral leukoplakia .....	79
--	----

**HISTORY OF MEDICINE**

<i>Frank G.A., Knopov M.Sh., Taranukha V.K.</i> To the 90 <sup>th</sup> anniversary of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education .....	84
--	----

## Гетерогенность опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке

© Н.А. ОЛЕЙНИКОВА<sup>1</sup>, О.А. ХАРЛОВА<sup>1</sup>, Н.В. ДАНИЛОВА<sup>1</sup>, И.А. МИХАЙЛОВ<sup>1</sup>, П.Г. МАЛЬКОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Опухолеассоциированные фибробласты (CAF) — неэпителиальные неиммунные клетки с мезенхимными свойствами, расположенные в строме опухоли или по ее краю. CAF выявлены для большинства солидных опухолей, в том числе колоректального рака, описана их роль в прогрессии опухоли.

**Материал и методы.** На материале 21 случая аденокарциномы толстой кишки проведено иммуногистохимическое исследование с пятью антителами (αSMA, POD, FAP, PDGFRα, PDGFRβ) с целью выявления CAF в трех зонах опухоли: апикальной, центральной и инвазивном крае. Использовали технологию дуплексной метки — на одном срезе параллельно проводили реакции с исследуемым маркером и с антителами к αSMA. Методом цветоделения в программе LAS X выделяли и подсчитывали площадь каждой метки. Для статистической обработки использовали программу Statistica 10.

**Результаты.** Выявлены более высокий уровень экспрессии POD в апикальной части и αSMA в инвазивном крае, а также выраженная экспрессия PDGFRβ, схожая во всех зонах. Корреляционный анализ определил сильную обратную связь между уровнем αSMA и FAP в центральной зоне ( $r=0,79$ ,  $p=0,034$ ), что свидетельствует о разном биологическом значении FAP и αSMA в отношении CAF и о том, что эти маркеры с малой долей вероятности могут выявлять одни и те же субпопуляции CAF. Установлены две сильные тенденции прямых взаимосвязей в центральной зоне в паре переменных αSMA/PDGFRα и POD/PDGFRα ( $p=0,06$  и  $p=0,07$  соответственно) и слабая тенденция в паре переменных PDGFRβ/PDGFRα ( $r=0,62$ ,  $p=0,054$ ). Впервые выявлены различия в расположении маркеров относительно опухолевых (эпителиальных) комплексов: в части случаев ближайшим слоем оказался αSMA, а в части — POD или FAP. Также отмечены смешанные случаи, где внутренний слой представлен сразу двумя маркерами.

**Заключение.** Полученные данные побуждают к проведению дополнительных исследований CAF и их особенностей на большем объеме материала с целью лучшего понимания молекулярно-биологических характеристик колоректального рака.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, опухолеассоциированные фибробласты, дуплексная метка, иммуногистохимия, опухолевое микроокружение, строма опухоли.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Олейникова Н.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Харлова О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-5909-1248>

Мальков П.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

Михайлов И.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8020-369X>

Данилова Н.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Олейникова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Михайлов И.А., Мальков П.Г. Гетерогенность опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке. *Архив патологии*. 2020;82(4):5–12. <https://doi.org/10.17116/patol2020820415>

## Heterogeneity of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer

© N.A. OLEYNIKOVA<sup>1</sup>, O.A. KHARLOVA<sup>1</sup>, N.V. DANILOVA<sup>1</sup>, I.A. MIKHAILOV<sup>1</sup>, P.G. MALKOV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** Cancer-associated fibroblasts (CAF) are non-epithelial non-immune cells with mesenchymal properties located in the stroma of the tumor or along its margin. CAFs are described for most solid tumors, including colorectal cancer, as well as their role in tumor progression.

**Materials and methods.** An immunohistochemical study with 5 antibodies (αSMA, POD, FAP, PDGFRα, PDGFRβ) was performed in 21 cases of colon adenocarcinoma in order to detect CAF in three tumor zones: apical, central and invasive region. Double staining immunohistochemical technology was used — in parallel with each marker a reaction with antibodies to αSMA was performed on one section. The color-separation method in the LAS X program was used to extract and calculate the area of each mark. Statistica 10 software was used for statistical analysis.

**Results.** The study revealed a higher level of POD expression in the apical part and αSMA in the invasive region. Expression of PDGFRβ is significant and similar in all zones. Correlation analysis revealed a strong inverse correlation between the level of αSMA and FAP in the central zone ( $r=0.79$ ,  $p=0.034$ ), that indicates different biological roles of FAP and αSMA in the context of CAFs.

Автор, ответственный за переписку: Олейникова Н.А. —  
e-mail: [ale\\_x\\_05@mail.ru](mailto:ale_x_05@mail.ru)

Corresponding author: Oleynikova N.A. — e-mail: [ale\\_x\\_05@mail.ru](mailto:ale_x_05@mail.ru)

Also it indicates that these markers are unlikely to reveal the same CAF subpopulations. Two strong trends of direct correlation are detected in the central zone in pairs  $\alpha$ SMA/PDGFR $\alpha$  and POD/PDGFR $\alpha$  ( $p=0.06$  and  $p=0.07$ , respectively) and a weak trend of direct correlation is found in a pair PDGFR $\beta$ /PDGFR $\alpha$  ( $r=0.62$ ,  $p=0.054$ ). For the first time, differences in the location of markers relative to tumor (epithelial) complexes were revealed: in some cases the closest layer was  $\alpha$ SMA, and in some others — POD or FAP. Mixed cases were also noted — the inner layer was represented by two markers at once.

**Conclusion.** The obtained data encourage to pursue more researches of CAF and their features on a larger series to increase the understanding of the molecular and biological characteristics of colorectal cancer.

**Keywords:** colorectal cancer, cancer-associated fibroblasts, double staining, immunohistochemistry, tumor microenvironment, tumor stroma.

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Oleynikova N.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Kharlova O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-5909-1248>

Danilova N.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Mikhailov I.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8020-369X>

Malkov P.G. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Oleynikova NA, Kharlova OA, Danilova NV, Mikhailov IA, Malkov PG. Heterogeneity of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):5–12. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2020820415>

Ответ организма-хозяина на развивающуюся опухоль предполагает сложные взаимодействия эпителиальных опухолевых клеток с клетками организма, которые обозначаются как десмопластическая реакция, или опухолевая трансформация стромы. Иммунные клетки, капилляры, базальная мембрана, активированные фибробласты и внеклеточный матрикс, окружающие опухолевые клетки, представляют собой опухолевую строму, или опухолевое микроокружение (tumor microenvironment, TME) [1]. Как стало понятно в последнее время, прогрессия опухоли и метастазирование контролируются TME и не зависят исключительно от автономных генетических дефектов опухолевых клеток [2]. Одним из ключевых компонентов опухолевой стромы являются опухолеассоциированные фибробласты (cancer-associated fibroblasts, CAF) — неэпителиальные неиммунные клетки с мезенхимными свойствами, расположенные в строме опухоли или по ее краю [3]. В сравнении с нормальными активированными фибробластами CAF характеризуются повышенным синтезом факторов роста и хемокинов, обладают большей пролиферативной активностью, способностью к передвижению. По некоторым данным [1], CAF также могут включать ассоциированные с опухолью мезенхимальные стволовые клетки (cancer-associated mesenchymal stem cells, MSC). CAF являются одним из ключевых компонентов опухолевой прогрессии и обеспечивают широкий спектр фиброзных изменений в строме в большинстве известных опухолей. В частности, CAF продуцируют белки, разрушающие внеклеточный матрикс (матриксные металлопротеиназы — MMP), обеспечивая миграцию опухолевых клеток. CAF описаны для большого количества опухолей, в том числе для колоректального рака [3].

Общепризнанным маркером активированных фибробластов, в частности CAF, является гладкомышечный альфа-актин ( $\alpha$ SMA), который также экспрессируется в гладкомышечных клетках и нормальных перикрипальных фибробластах [4]. Другими маркерами CAF считаются белок активации фибробластов (FAP), рецепторы тромбоцитарного фактора роста (PDGFR $\alpha$ ) и PDGFR $\beta$ ), подоплатин (POD) [5]. Все обозначенные маркеры не являются специфичными для CAF. Так, FAP также экспрессируется воспалительными клетками, PDGFR выявляются на пери-

цитах [1, 6], POD — в лимфатических сосудах. Некоторые маркеры, используемые для оценки CAF, также характерны для нормальных активированных (не покоящихся) перикрипальных фибробластов.

Опухоли иногда представляют как «раны, которые не заживают», так как длительное накопление опухолевых клеток в любой ткани инициирует хроническую репаративную реакцию. Роль миофибробластов в заживлении ран достаточно исследована и понятна, но их функциональная роль в прогрессировании рака и метастазировании сложна и противоречива. Некоторые исследования свидетельствуют о том, что CAF могут не только способствовать прогрессии опухоли, но и сдерживать ее развитие [7, 8]. Выявление специфичных маркеров CAF, оценка их роли в канцерогенезе и разработка таргетных препаратов — важные этапы в развитии диагностики и лечении колоректального рака.

## Материал и методы

В исследование включен 21 случай аденокарциномы толстой кишки без метастазов. Отбирали блоки из центральной (некраевой) части опухоли. Для идентификации CAF использовали моноклональные антитела к POD (Abcam, клон EPR22182), FAP (Abcam, клон SP325), PDGFR $\alpha$  (Abcam, клон EPR22059-270), PDGFR $\beta$  (Abcam, клон Y92). Использована технология дуплексной метки — на каждом из срезов параллельно проводили две реакции: с одним из исследуемых маркеров CAF и с антителами к гладкомышечному альфа актину ( $\alpha$ SMA). Детекцию дуплексной метки осуществляли с помощью набора Double Stain IHC Kit: M&R on human tissue (HRP/Green&AP/Red, Abcam ab210061) по методике, рекомендованной производителем. На всех срезах  $\alpha$ SMA окрашивали зеленым цветом, а любой второй исследуемый маркер — красным. Предварительную обработку (депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов) проводили в PT-Module (Thermo Scientific, Англия) в течение 20 мин (95–98 °C) при pH 8,0. Блокировку эндогенных ферментов проводили последовательно с помощью Hydrogen Peroxide Block (Ultra Vision Quanto Detection System HRPDAB) и 1 мМ раствора левамизола (по 10 мин). Иммуногистохимические реакции осуществляли в полуавтоматическом

режиме с использованием автостейнера Autostainer 480S (Thermo Scientific, Англия).

Полученные препараты оценивали с помощью микроскопа Leica DM4000B, камеры Leica DFC495 и специализированной системы продвинутого морфометрического анализа LASX, в которой методом цветоделиения проводили выделение и подсчет площади красной и зеленой меток по отдельности. В каждом случае осуществляли оценку при увеличении объектива в 20 раз в трех зонах опухоли: апикальной (ближайшей к просвету органа), центральной и в инвазивном крае. Зона интереса — область с выраженной стромой и максимально выраженными реакциями обоих маркеров (рис. 1). Из подсчета исключали реакцию  $\alpha$ SMA в стенках сосудов, мышечной пластинке слизистой оболочки и мышечном слое стенки кишки. Полученные значения площади каждой метки далее по тексту обозначены как «значение маркера», «показатель», «уровень экспрессии».

Для статистической обработки полученных данных использовали программный пакет Statistica 10 (StatSoft, Inc., США).

Анализ колокализации маркеров проводили в 2-элементных группах, составленных из 5-элементного множества. Число анализируемых пар переменных рассчитывали на основании формулы классической комбинаторики для расчета биномиального коэффициента:

$$C_n^k = \frac{n!}{k! \cdot (n-k)!},$$

$$C_5^2 = \frac{5!}{2! \cdot (5-2)!} = \frac{5!}{2! \cdot 3!} = \frac{4 \cdot 5}{1 \cdot 2} = 10.$$

Всего проанализировано 10 попарных сочетаний маркеров, а с учетом разделения каждого препарата на три зоны (апикальная, центральная части и инвазивный край опухоли) число пар переменных составило 30.

В качестве меры локализации маркеров использовали коэффициент линейной корреляции Пирсона (Pearson).

Значимость различий в уровне экспрессии маркеров устанавливали с помощью параметрических и в ряде случаев — непараметрических методов. Из параметрических методов использовали одно- и многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и  $F$ -тест. Проверку характера распределения проводили на основании критериев Шапиро—Уилка (Shapiro—Wilktest) и Колмогорова—Смирнова. Из непараметрических методов для попарного сравнения применяли критерий Манна—Уитни (Mann—Whitney  $U$ -test); для множественного сравнения — критерий Краскала—Уоллиса (Kruskal—Wallistest).

## Результаты и обсуждение

Настоящая работа не была нацелена на выявление потенциальных прогностических характеристик субпопуляций CAF, ввиду чего подбирались максимально однородная выборка: в исследование включены аденокарциномы G1-G2 без регионарных и отдаленных метастазов, лимфоваскулярной и сосудистой инвазии, преимущественно без перинеуральной инвазии и неопьювантного лечения на дооперационном этапе. Тем не менее выявлены существенные различия в уровне экспрессии маркеров в разных зонах опухоли. За исключением  $\alpha$ SMA, в интактной слизистой оболочке исследуемые маркеры (POD, FAP, PDGFR $\alpha$ , PDGFR $\beta$ ) не экспрессировались. Реакция  $\alpha$ SMA наблюдалась в мышечной пластинке слизистой оболочки, а также

в крипальных фибробластах, формируя окантовку каждой крипты (рис. 2, а).

В ходе многофакторного дисперсионного анализа установлено, что уровень экспрессии маркера  $\alpha$ SMA в каждой из трех зон достоверно различался (рис. 3) (уровень значимости  $p=0,0081$ ), а именно: уровень экспрессии  $\alpha$ SMA был значимо выше в инвазивном крае и центральной части по сравнению с апикальной.

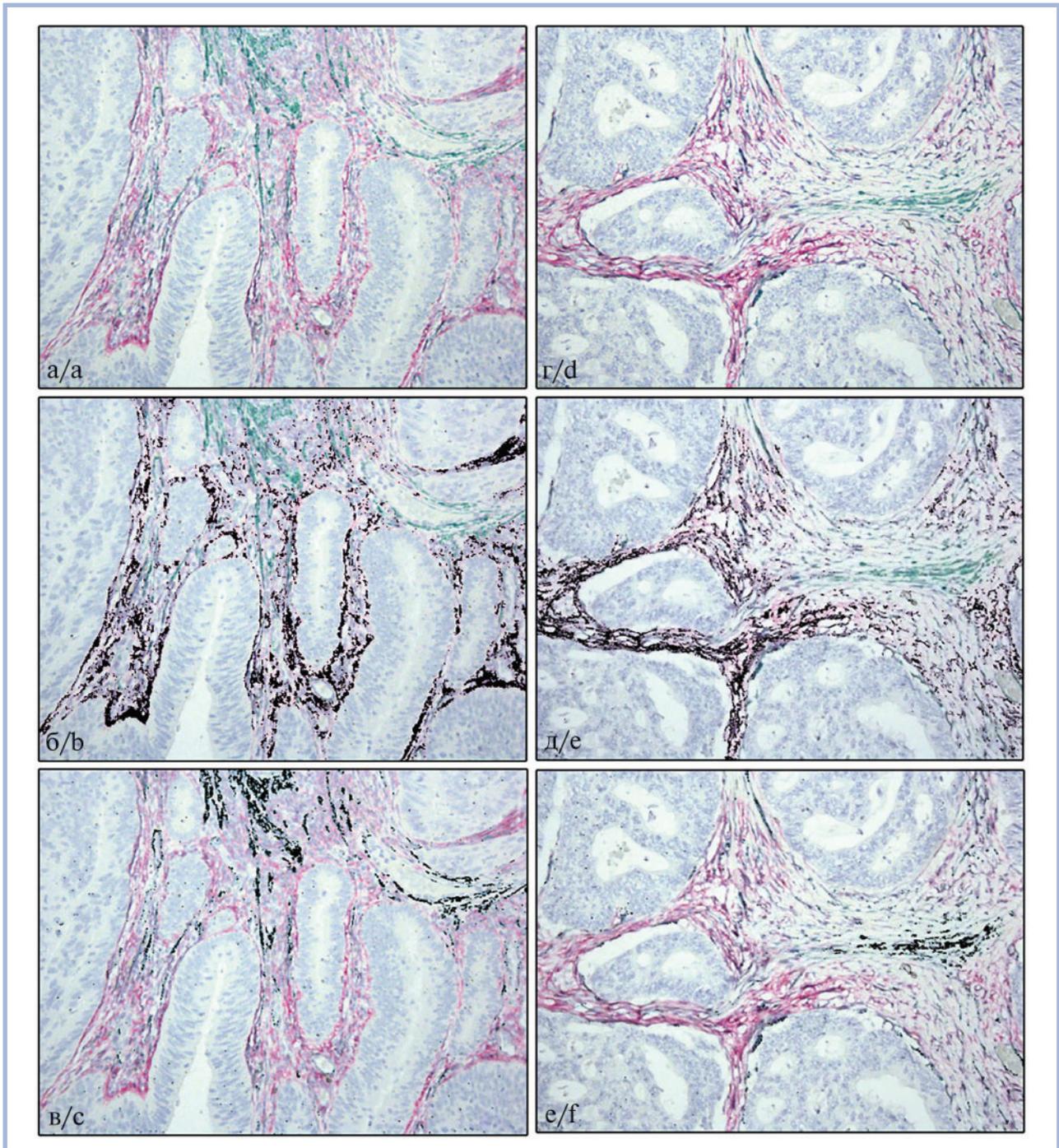
При анализе уровня экспрессии маркера POD в каждой из трех зон методом многофакторного дисперсионного анализа достоверных различий не обнаружено (уровень значимости  $p=0,2018$ ). Однако при применении непараметрического аналога этого метода (критерия Краскала—Уоллиса) установлены значимые различия в уровне экспрессии маркера POD в каждой из трех зон (уровень значимости  $p=0,0138$ ). При этом по сравнению с  $\alpha$ SMA уровень экспрессии POD демонстрирует противоположную тенденцию: в апикальной части (рис. 2, б) он выше, чем в центральной и инвазивном крае. Значения остальных маркеров значимо не отличались в разных зонах опухоли.

Установленные различия в уровне экспрессии каждого маркера в разных зонах свидетельствуют о выраженной гетерогенности. Отсутствие общей закономерности в распределении всех маркеров, описываемых как маркеры CAF, свидетельствует о потенциально разных выявляемых субпопуляциях клеток, с одной стороны, и о невозможности выявить все CAF с помощью одного маркера, — с другой. Несомненно, открытым остается вопрос о принадлежности всех этих маркеров к CAF. Несмотря на то что в исследовании выбирали поля зрения с минимальными «лишними» элементами, а воспалительный инфильтрат, мышечные элементы стенки кишки и сосуды не включали в оцениваемую площадь, полностью исключить все не относящиеся к CAF элементы невозможно. Мы полагаем, что повышенный уровень POD в апикальной части может быть связан с увеличенным количеством молодых сосудов и фибробластов, являющихся основой грануляционной ткани (рис. 2, в) в части опухоли, окружающей язвенный дефект, который наблюдался в 90,5% случаев выборки. Однако вследствие малого объема выборки статистически это предположение не подтвердилось.

Противоположная картина наблюдалась с  $\alpha$ SMA, максимальная экспрессия которого выявлялась в инвазивном крае и центральной зоне. Инвазивным краем считалось место непосредственной инвазии в клетчатку (где по последним рекомендациям следует подсчитывать количество «опухолевых почек» (tumor budding) [9]). В этой зоне нет грануляционной ткани, избыли сосудов, которые могли бы стать причиной ложных высоких показателей, а воспалительный инфильтрат, наблюдаемый в немногочисленных случаях, не экспрессирует  $\alpha$ SMA. В связи с этим полученные данные представляются корректными.

При сравнении значений маркеров между собой (рис. 4) обращают внимание более высокие показатели PDGFR $\beta$  и  $\alpha$ SMA и низкие показатели PDGFR $\alpha$  в центральной и инвазивной зонах. Отмечен высокий уровень экспрессии PDGFR $\beta$  во всех зонах большинства наблюдений. Считается, что экспрессия PDGFR $\beta$  в строме опухоли толстой кишки может быть ассоциирована с метастатическим потенциалом [10] и низкой дифференцировкой опухоли в плоскоклеточных опухолях пищевода [11].

Корреляционный анализ с целью поиска связи между экспрессией маркеров (колокализация) в каждой из зон обнаружил сильную обратную связь между уровнем  $\alpha$ SMA и FAP



**Рис. 1.** Иммуногистохимические реакции с антителами к PDGFR $\beta$  (красный) и  $\alpha$ SMA (зеленый), дуплексная метка на одном срезе,  $\times 20$ .

а, б, в — апикальная часть опухоли; г, д, е — инвазивный край опухоли; б, в, д, е — выделение (черный) каждого из цветов методом цветоразделения с помощью программного средства LASX с последующим подсчетом площади метки: б — 6,029% PDGFR $\beta$ ; в — 1,708%  $\alpha$ SMA; д — 5,782% PDGFR $\beta$ ; е — 0,722%  $\alpha$ SMA.

**Fig. 1.** Immunohistochemical reactions with antibodies to PDGFR $\beta$  (red) and  $\alpha$ SMA (green), a duplex mark on one slice,  $\times 20$ . а, b, c — apical part of the tumor; d, e, f — invasive edge of the tumor. b, c, e, f — selection (black) of each color by color separation using the LASX software tool, followed by calculating the label area: b — 6,029% PDGFR $\beta$ ; c — 1,708%  $\alpha$ SMA; e — 5,782% PDGFR $\beta$ ; f — 0,722%  $\alpha$ SMA.

в центральной зоне ( $r=0,79$ ,  $p=0,034$ ). Этот факт свидетельствует о разном биологическом значении FAP и  $\alpha$ SMA в отношении CAF и о том, что эти маркеры могут быть использованы для выявления разных субпопуляций CAF. Известно, что

FAP также экспрессируется мезенхимальными стволовыми клетками (MSC) в различных локализациях. Кроме того, FAP выделен методом ПЦР из условно интактной стромы, прилегающей к опухоли (карцинома пищевода, легкого и глиома),

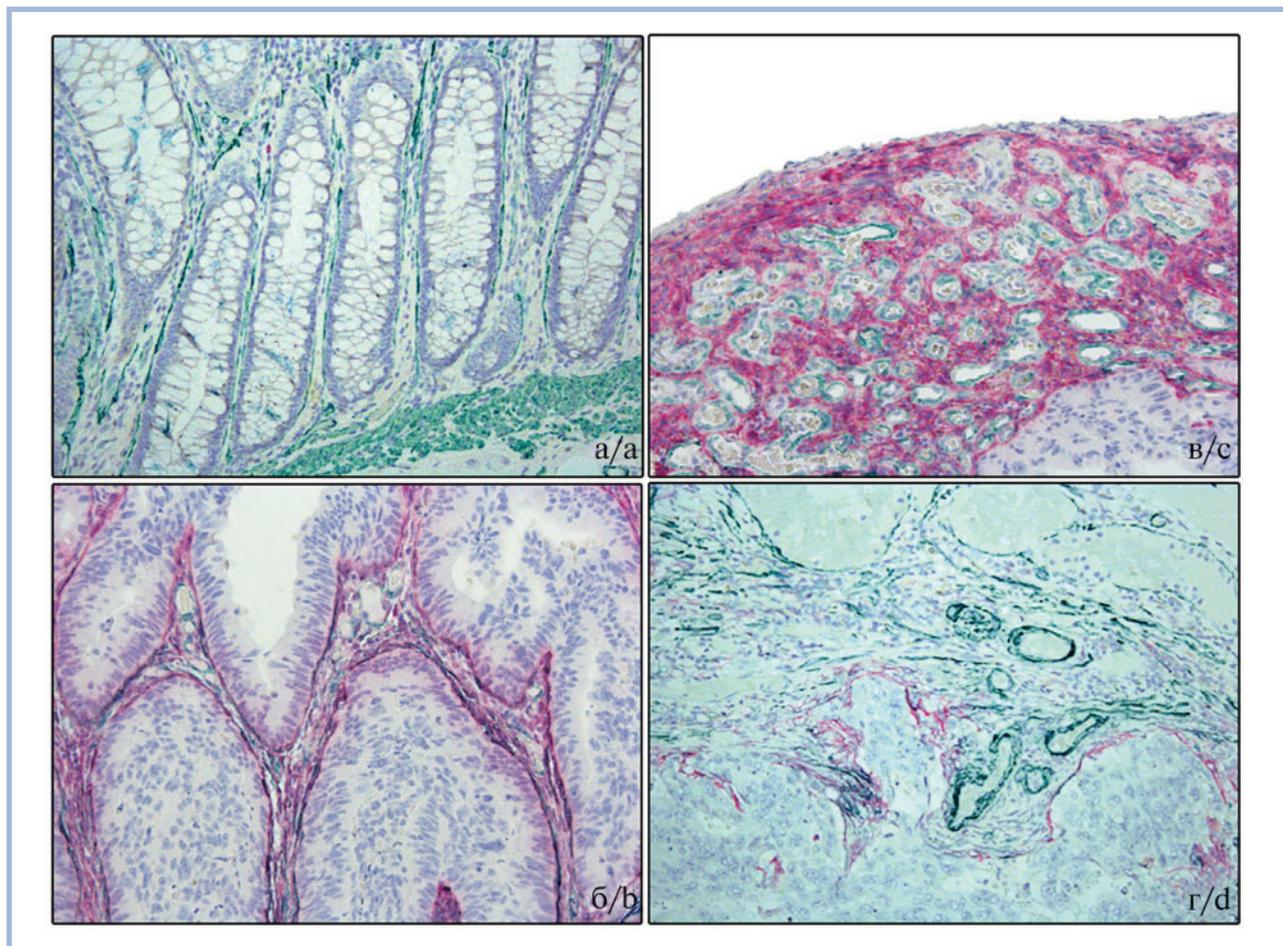


Рис. 2. Иммуногистохимические реакции, ×20.

а — реакция с антителами к αSMA в интактной слизистой оболочке, вторая метка отсутствует; б — реакция с POD (красный) и αSMA (зеленый) в апикальной части опухоли; в — реакция с POD (красный) и αSMA (зеленый) в грануляционной ткани (внутренний край изъязвления опухоли); г — реакция с FAP (красный) и αSMA (зеленый) в инвазивном крае опухоли.

Fig. 2. Immunohistochemical reactions, ×20.

а — reaction with antibodies to αSMA in the intact mucosa, the second label is missing; б — reaction with POD (red) and αSMA (green) in the apical part of the tumor; в — reaction with POD (red) and αSMA (green) in the granulation tissue (inner edge of the tumor ulceration); г — reaction with FAP (red) and αSMA (green) in the invasive edge of the tumor.

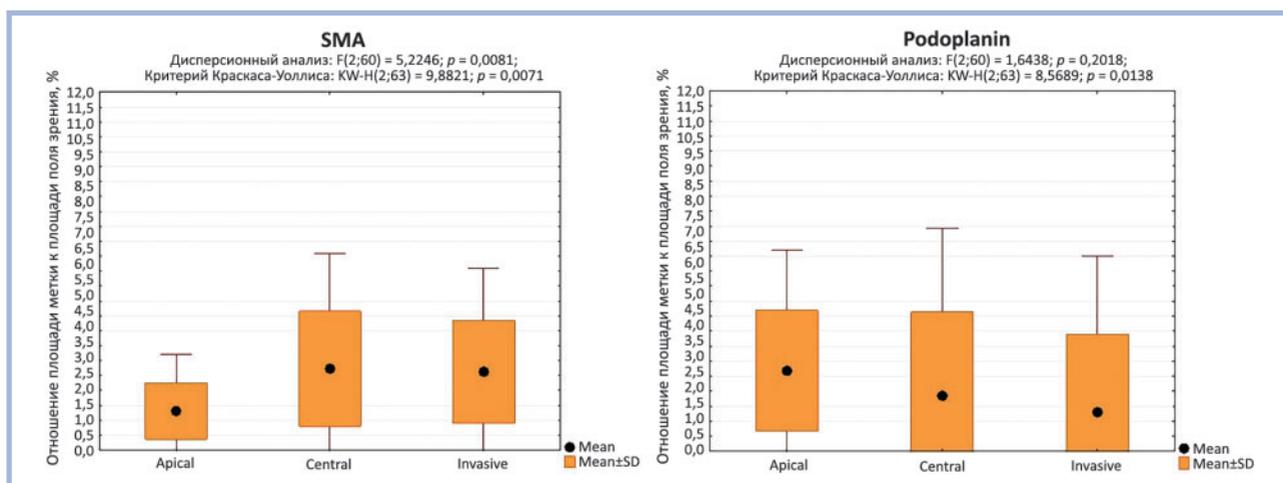
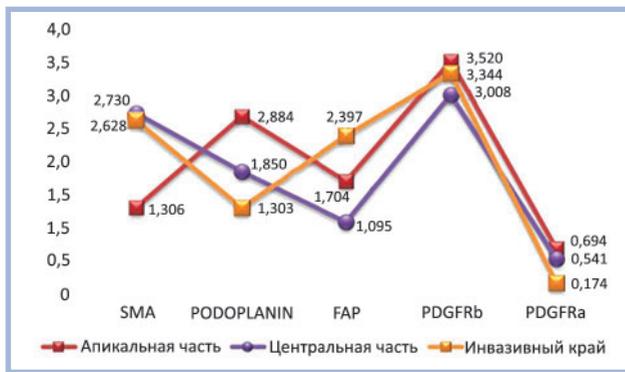


Рис. 3. Средние значения αSMA и POD в трех различных зонах со стандартными отклонениями.

Fig. 3. Average values of the αSMA and POD in three different zones with standard deviations.



**Рис. 4.** Средние значения отношения площади метки к площади поля зрения для каждого маркера в различных зонах аденокарциномы толстой кишки.

**Fig. 4.** Average values of the ratio the mark's area to the the field of vision's area for each marker in different zones of colon adenocarcinoma.

в то время как в интактных тканях, расположенных на отдалении от опухоли, FAP не обнаружен [12, 13].

Также выявлены две сильные тенденции прямых взаимосвязей в центральной зоне в парах переменных  $\alpha$ SMA/PDGFR $\alpha$  и POD/PDGFR $\alpha$  ( $p=0,06$  и  $p=0,07$  соответственно) и слабая тенденция в паре переменных PDGFR $\beta$ /PDGFR $\alpha$  ( $r=0,62$ ,  $p=0,054$ ). Есть данные о связи высокого уровня PDGFR $\alpha$  с хорошим прогнозом, а PDGFR $\beta$  с плохим во многих солидных опухолях, что некоторые авторы интерпретируют как принадлежность PDGFR $\alpha$  к сдерживающей популяции CAF [14]. Полученные данные не противоречат этой концепции: если принять PDGFR $\alpha$  в качестве хорошего прогностического фактора, то прямые взаимосвязи с POD и  $\alpha$ SMA косвенно свидетельствуют и об их благоприятном прогностическом значении. В рамках этих рассуждений обратная взаимосвязь  $\alpha$ SMA/FAP представляет FAP как неблагоприятный прогностический фактор, что сочетается с данными мировой литературы, поскольку есть сведения о связи высокого уровня экспрессии FAP с регионарным метастазированием, низкой общей выживаемостью, высокой степенью злокачественности для карцином различной локализации, в том числе колоректального рака [15]. Таким образом, полученные корреляции и данные о колокализации маркеров кажутся логичными, хотя нельзя исключать определенной погрешности в связи с малой выборкой ( $n=21$ ).

В ходе анализа изображений помимо площади метки обратили внимание на расположение каждого из пары маркеров относительно опухолевых комплексов. Обнаружено, что в разных случаях внутренний (ближайший к опухолевому комплексу) слой отличался. Так, в одной карциноме (1-й случай) ближайшим оказался зеленый слой ( $\alpha$ SMA) по сравнению с POD и PDGFR (рис. 5, а, г). В другой опухоли (2-й случай) ближайшим оказался красный слой (рис. 5, б, д) (POD и PDGFR $\beta$  соответственно). Мнение о том, что распределение маркеров зависит от конкретной опухоли, оказалось ложным, так как в рамках каждого из приведенных случаев обнаружена смешанная экспрессия: для ряда маркеров ближайший к эпителиальным комплексам контур был представлен как зеленой, так и красной меткой. Такая ситуация продемонстрирована для пары POD/ $\alpha$ SMA в n2 (рис. 5, в) и пары FAP/ $\alpha$ SMA в n1 (рис. 5, е). Продемонстрированные различия кажутся чрезвычайно интересны-

ми, поскольку, возможно, именно ближайший слой фибробластов оказывает большее влияние на эпителиальные структуры, обуславливая поведение и развитие опухоли. Перспективным может оказаться поиск корреляций между прогностическими клиничко-морфологическими характеристиками и внутренним слоем фибробластов.

Настоящая работа основана на сравнении исследуемых маркеров с  $\alpha$ SMA как наиболее общепризнанного маркера CAF. Однако наличие  $\alpha$ SMA также в сосудах, мышечной ткани и, возможно, в ряде мезенхимальных элементов затрудняет идентификацию именно CAF, в связи с чем оценка внутреннего слоя в сравнении с  $\alpha$ SMA может оказаться некорректной. Другой проблемой является гетерогенность распределения даже в пределах одного случая, как в нашем 2-м примере (см. рис. 5, б, в), когда в одной опухоли конкретный маркер (POD) является и внутренним и внешним слоем одновременно в разных полях зрения. И третьей основной проблемой является непосредственная оценка внутреннего слоя (см. рис. 5, е) при смешанной экспрессии, когда часть контура представлена зеленой меткой ( $\alpha$ SMA), а часть — красной. Возможно, при рассмотрении большего количества маркеров на одном срезе, распределение окажется еще более мозаичным и сложным.

## Заключение

Проведены идентификация и оценка уровня CAF с помощью пяти маркеров:  $\alpha$ SMA, FAP, PDGFR $\alpha$ , PDGFR $\beta$  и POD. Несмотря на выраженную гетерогенность распределения маркеров в зависимости от зоны опухоли, удалось установить более высокий уровень экспрессии POD в апикальной части и  $\alpha$ SMA в инвазивном крае. В большинстве случаев во всех зонах отмечался достоверно не различающийся высокий уровень экспрессии PDGFR $\beta$ . Впервые получены статистически значимые данные о колокализации  $\alpha$ SMA/FAP,  $\alpha$ SMA/PDGFR $\alpha$  и POD/PDGFR $\alpha$  в колоректальном раке, а также отмечены статистически значимые данные о колокализации  $\alpha$ SMA/FAP,  $\alpha$ SMA/PDGFR $\alpha$  и POD/PDGFR $\alpha$  в колоректальном раке. Выявленные впервые различия в расположении маркеров относительно опухолевых (эпителиальных) комплексов стали возможны благодаря идентификации CAF с помощью технологии дуплексной метки на одном срезе. Полученные данные побуждают к проведению дополнительных исследований CAF и их особенностей на большем объеме материала с целью лучшего понимания молекулярно-биологических характеристик колоректального рака.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Н.А. Олейникова  
Сбор и обработка материала — Н.А. Олейникова, О.А. Харлова

Статистическая обработка данных — И.А. Михайлов

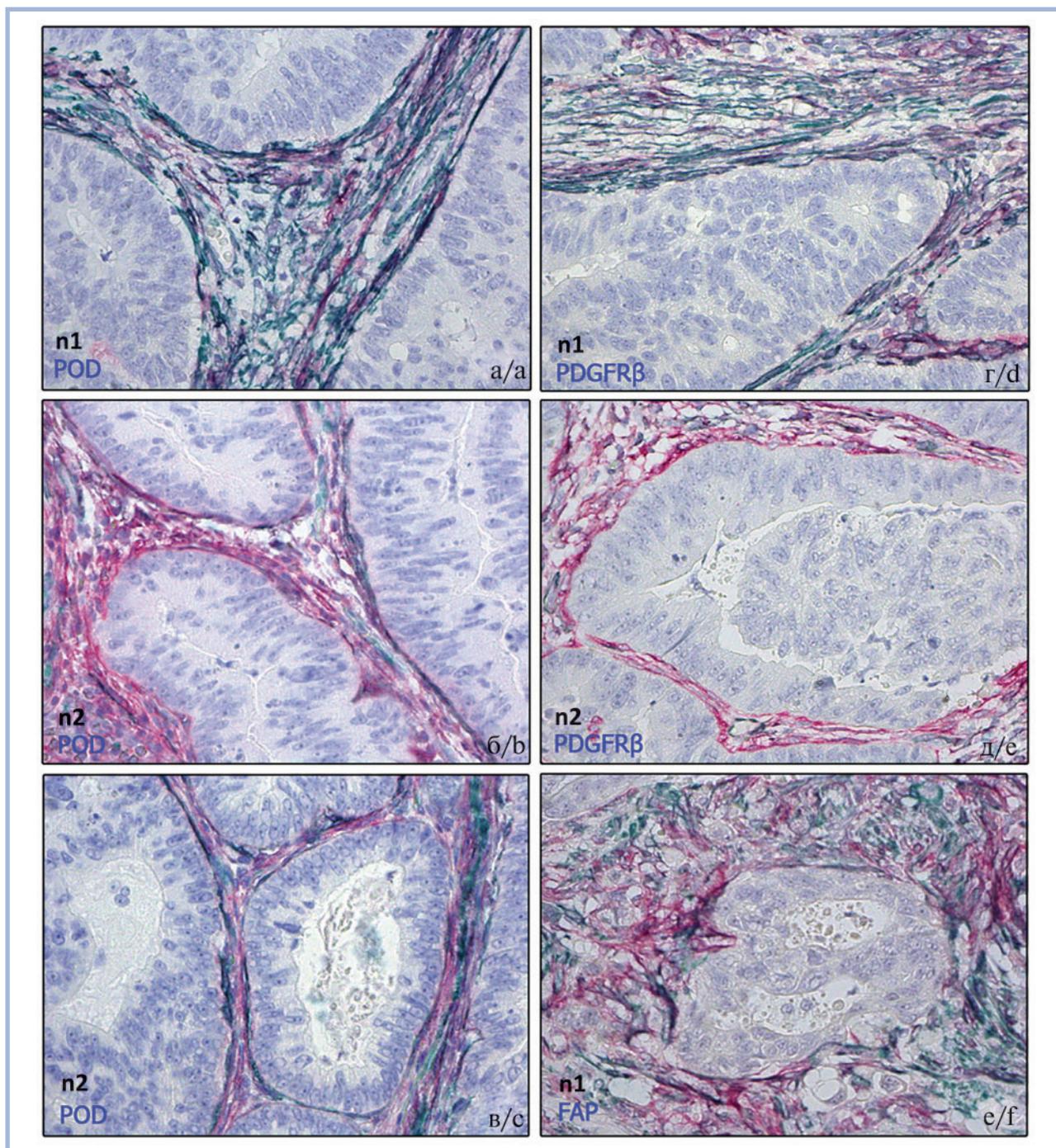
Написание текста — Н.А. Олейникова

Редактирование — Н.В. Данилова, П. Г. Мальков

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ, грант «Перспектива» №19-315-60006) и с использованием оборудования, приобретенного по программе развития МГУ им. М.В. Ломоносова до 2020 г.*

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**The authors declare no conflicts of interest.**



**Рис. 5.** Различия в расположении реакции маркеров CAF относительно опухолевых комплексов на примере двух случаев (n1 и n2).

а, б, в — реакция с POD (красный) и  $\alpha$ SMA (зеленый); г, д — реакция с PDGFR $\beta$  (красный) и  $\alpha$ SMA(зеленый); е — реакция с FAP (красный) и  $\alpha$ SMA (зеленый),  $\times 40$ .

**Fig. 5.** Differences in the location of the CAF marker reaction relative to tumor complexes in two cases (n1 and n2).

а, b, с — reaction with POD (red) and  $\alpha$ SMA (green); d, e — reaction with PDGFR $\beta$  (red) and  $\alpha$ SMA (green); f — reaction with FAP (red) and  $\alpha$ SMA (green),  $\times 40$ .

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):582-598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>.
2. Lujambio A, Akkari L, Simon J, Grace D, Tschaharganeh DF, Bolden JE, Zhao Z, Thapar V, Joyce JA, Krizhanovsky V, Lowe

- SW. Non-cell-autonomous tumor suppression by p53. *Cell*. 2013; 153(2):449-460.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.020>.
3. Tommelein J, Verset L, Boterberg T, Demetter P, Bracke M, De Wever O. Cancer-associated fibroblasts connect metastasis-promoting communication in colorectal cancer. *Front Oncol*. 2015;5:63.  
<https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00063>
  4. Berdiel-Acer M, Sanz-Pamplona R, Calon A, Cuadras D, Berenguer A, Sanjuan X, Paules MJ, Salazar R, Moreno V, Batlle E, Villanueva A, Molleví DG. Differences between CAFs and their paired NCF from adjacent colonic mucosa reveal functional heterogeneity of CAFs, providing prognostic information. *Mol Oncol*. 2014;8(7):1290-1305.  
<https://doi.org/10.1016/j.molonc.2014.04.006>.
  5. Darby IA, Laverdet B, Bonte F, Desmouliere A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014;7:301-311.  
<https://doi.org/10.2147/CCID.S50046>.
  6. Cortez E, Roswall P, Pietras K. Functional subsets of mesenchymal cell types in the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol*. 2014;25:3-9.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.12.010>.
  7. Dumont N, Liu B, Defilippis RA, Chang H, Rabban JT, Karnezis AN, Tjoe JA, Marx J, Parvin B, Tlsty TD. Breast fibroblasts modulate early dissemination, tumorigenesis, and metastasis through alteration of extracellular matrix characteristics. *Neoplasia*. 2013;15(3):249-262.  
<https://doi.org/10.1593/neo.121950>.
  8. Ishii G, Ochiai A, Neri S. Phenotypic and functional heterogeneity of cancer-associated fibroblast within the tumor microenvironment. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;99(Pt B):186-196.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.07.007>.
  9. WHO classification of tumours. Digestive system tumours. 5<sup>th</sup> ed. WHO Press; 2019.
  10. Kitadai Y, Sasaki T, Kuwai T, Nakamura T, Bucana CD, Hamilton SR, Filder IJ. Expression of activated platelet-derived growth factor receptor in stromal cells of human colon carcinomas is associated with metastatic potential. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2567-2574.  
<https://doi.org/10.1002/ijc.22229>
  11. Ha SY, Yeo SY, Xuan YH, Kim SH. The prognostic significance of cancer-associated fibroblasts in esophageal squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2014;9(6):e99955.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099955>
  12. Krepela E, Busek P, Hilser M, Vanickova Z, Sedo A. Species-specific real-time RT-PCR analysis of expression of stromal cell genes in a tumor xenotransplantation model in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;491(1):126-133.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.07.061>
  13. Tyulkina DV, Pleshkan VV, Alekseenko IV, Kopantseva MR, Sverdlov ED. Expression of the FAP gene in non-fibroblast human cell lines. Development of cancer-associated fibroblast models. *Dokl Biochem Biophys*. 2016;470(1):319-321.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672916050033>.
  14. Kilvaer TK, Rakaee M, Hellevik T, Vik J, Petris L, Donnem T, et al. Differential prognostic impact of platelet-derived growth factor receptor expression in NSCLC. *Sci Rep*. 2019;9(1):10163.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-46510-3>
  15. Pure E, Blomberg R. Pro-tumorigenic roles of fibroblast activation protein in cancer: back to the basics. *Oncogene*. 2018;37(32):4343-4357.  
<https://doi.org/10.1038/s41388-018-0275-3>

Поступила 18.05.2020

Received 18.05.2020

Принята в печать 25.05.2020

Accepted 25.05.2020

## Особенности морфологии суставного хряща пациентов с разными фенотипами остеоартроза коленных суставов

© К.В. КОРОЧИНА, Т.В. ЧЕРНЫШЕВА, В.С. ПОЛЯКОВА, И.Э. КОРОЧИНА

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** — выявить структурно-функциональные особенности суставного хряща пациентов с возрастным, посттравматическим, метаболическим и смешанным фенотипами остеоартроза (ОА) коленных суставов.

**Материал и методы.** Изучен суставной хрящ (СХ) медиального мышелка большеберцовой кости коленного сустава у 40 пациентов с гонартрозом III–IV стадии возрастного, посттравматического, метаболического и смешанного фенотипов ( $n=10$ ) с использованием гистохимических, морфометрических, статистических методов.

**Результаты.** СХ пациентов с возрастным фенотипом ОА характеризовался глубокими трещинами, оголением субхондральной кости, гипоклеточностью, резким снижением содержания протеогликанов. Посттравматический ОА отличался неравномерными дефектами поверхности, замещением волокнистым хрящом, кластеризацией хондроцитов. При метаболическом фенотипе наблюдалась выраженная васкуляризация и оссификация хряща. Смешанный фенотип ОА имел гетерогенное строение.

**Выводы.** Изучена морфологическая основа разных фенотипов ОА. Наиболее выраженные дегенеративные изменения СХ выявлены при возрастном фенотипе; сохранение регенеративных потенциалов хряща обнаружено при посттравматическом ОА; отмечено вовлечение субхондральной кости при метаболическом фенотипе; получена варибельная морфологическая картина СХ у больных с ОА смешанного генеза.

**Ключевые слова:** морфология, хрящ, остеоартроз, фенотип, коленный сустав.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Корочина К.В. — <https://orcid.org/0000-0003-2110-1428>

Чернышева Т.В. — e-mail: [zaitv@yandex.ru](mailto:zaitv@yandex.ru)

Полякова В.С. — e-mail: [k\\_patanat@orgma.ru](mailto:k_patanat@orgma.ru)

Корочина И.Э. — e-mail: [iris\\_kor@inbox.ru](mailto:iris_kor@inbox.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Корочина К.В., Чернышева Т.В., Полякова В.С., Корочина И.Э. Особенности морфологии суставного хряща пациентов с разными фенотипами остеоартроза коленных суставов. *Архив патологии.* 2020;82(4):13–18. <https://doi.org/10.17116/patol20208204113>

## Features of morphology of articular cartilage in patients with different phenotypes of knee osteoarthritis

© K.V. KOROCHINA, T.V. CHERNYSHEVA, V.S. POLYAKOVA, I.E. KOROCHINA

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

### ABSTRACT

**Aim of study.** To identify structural and functional features of articular cartilage of patients with age-related, post-traumatic, metabolic and mixed phenotypes of knee joints osteoarthritis (OA).

**Materials and methods.** The articular cartilage (AC) of medial condyle of the knee joint tibia was studied in 40 patients with stage III–IV gonarthrosis of age-related, post-traumatic, metabolic and mixed phenotypes ( $n=10$ ) using histochemical, morphometric, and statistical methods.

**Results.** AC of patients with an age-related OA phenotype was characterized by deep fissures, exposure of the subchondral bone, hypocellularity, and a sharp decrease in the content of proteoglycans. Post-traumatic OA was characterized by uneven surface defects, fibrous cartilage replacement, and chondrocyte clustering. With a metabolic phenotype, pronounced vascularization and ossification of cartilage was observed. The mixed phenotype of OA had a heterogeneous structure.

**Conclusions.** The morphological basis of various OA phenotypes was studied. The most pronounced degenerative changes in AC were identified with an age-related phenotype; preservation of the regenerative potency of cartilage was found in post-traumatic OA; involvement of the subchondral bone with metabolic phenotype was noted; variable morphological picture of AC was obtained in patients with OA of mixed genesis.

**Keywords:** morphology, cartilage, osteoarthritis, phenotype, knee joint.

### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Korochina K.V. — <https://orcid.org/0000-0003-2110-1428>

Chernysheva T.V. — e-mail: [zaitv@yandex.ru](mailto:zaitv@yandex.ru)

Polyakova V.S. — e-mail: [k\\_patanat@orgma.ru](mailto:k_patanat@orgma.ru)

Korochina I.E. — e-mail: [iris\\_kor@inbox.ru](mailto:iris_kor@inbox.ru)

Автор, ответственный за переписку: Корочина К.В. — e-mail: [kris\\_kor@inbox.ru](mailto:kris_kor@inbox.ru)

Corresponding author: Korochina K.V. — e-mail: [kris\\_kor@inbox.ru](mailto:kris_kor@inbox.ru)

## TO CITE THIS ARTICLE:

Korochina KV, Chernysheva TV, Polyakova VS, Korochina IE. Features of morphology of articular cartilage in patients with different phenotypes of knee osteoarthritis. *Archive of Pathology = Arhiv patologii*. 2020;82(4):13–18. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204113>

Остеоартроз (ОА) представляет собой гетерогенную группу заболеваний различной этиологии со сходными биологическими, морфологическими и клиническими проявлениями, при которых в патологический процесс вовлекаются все структуры сустава [1]. Отсутствие единого понимания начинается с определения, где он позиционируется как «группа заболеваний». При этом очевидна клиничко-патогенетическая вариабельность ОА. К сожалению, единая четкая фенотипизация заболевания до сих пор отсутствует и проводится множество попыток классифицировать ОА [2–5]. Среди них наиболее значимыми представляются те, которые основываются на влиянии доказанных факторов риска заболевания и учитывают его патогенетические особенности [2, 5, 6]. Можно предположить, что многообразные проявления ОА базируются на определенной структурной основе, однако исследования в этой области единичны.

Морфологические методы исследования позволяют дать исчерпывающее представление о преобразовании тканей суставов больных с ОА. Хотя общие закономерности реорганизации суставных структур при ОА известны [7–10], однако даже на поздних, казалось, наиболее изученных стадиях обнаруживаются неоднозначные данные, а некоторые морфологические находки противоречат текущим концепциям. Например, в работе [11] проникновение сосудов из субхондральной кости в суставной хрящ (СХ) через базофильную линию наблюдалось в 60% случаев у больных ОА и в 20% в контрольной группе. В исследовании L. Wyatt и соавт. [12] у здоровых пациентов также обнаружено нарушение целостности базофильной линии. К сожалению, в отечественной литературе подобные исследования практически не представлены. Более того, структурно-функциональные особенности разных фенотипов заболевания не исследовались. В большинстве исследований морфологию суставных структур анализировали при ОА травматического характера [9, 13]. В единичных работах приводили данные о гистопатологических особенностях хрящевой ткани в сравнительном аспекте [7]. При этом специфические морфологические особенности строения суставов в зависимости от генеза ОА четко не ясны.

Несмотря на клиничко-патогенетическую гетерогенность ОА, большинство работ по изучению морфологии суставов в отечественной литературе носит описательный характер, без использования специализированных шкал для объективной сравнительной оценки состояния суставных структур. В англоязычной литературе наиболее распространены две оценочные системы морфологии СХ при ОА, доказавшие свою надежность и достоверность: Шкала полуколичественной гистохимико-гистологической оценки состояния хряща по Н. Mankin [14] и Шкала оценки гистопатологии хряща OARSI (2006) [15]. Первая шкала отражает особенности внутренней структурной реорганизации СХ (состояние поверхности, клеточный состав и т.д.), вторая позволяет оценить глубину (степени) и площадь (стадии) его поражения.

Таким образом, исследование структурных особенностей разных фенотипов ОА с использованием объективных морфологических шкал представляется актуальным.

**Цель исследования** — выявить структурно-функциональные особенности суставного хряща пациентов с наиболее распространенными фенотипами ОА коленных суставов.

## Материал и методы

Проведенное исследование соответствовало положениям пересмотренного варианта Хельсинкской декларации (2000), было одобрено Локальным этическим комитетом Оренбургского государственного медицинского университета (выписка из протокола №150) и включало результаты обследования 40 пациентов с гонартрозом III–IV рентгенологической стадии (согласно Kellgren и Lawrence, 1957), направленных на тотальное эндопротезирование коленного сустава на базе травматолого-ортопедических отделений ГБУЗ ООКБ и МБУЗ ГКБ №4 Оренбурга. На основе предлагаемых в научной литературе классификаций ОА выделено и изучено 4 варианта заболевания: возрастной, посттравматический (наличие предшествующей травмы сустава), метаболический (индекс массы тела более 30 кг/м<sup>2</sup>, наличие метаболического синдрома), смешанный (их сочетание). Для достижения патогенетической однородности выделяемых групп влияние других факторов исключалось: пациенты, имеющие профессиональные факторы риска ОА и регулярно высокоинтенсивно занимающиеся спортом в анамнезе, не входили в исследование. Также критериями исключения были другие ревматологические, аутоиммунные заболевания, остеохондропатия коленного сустава. Количество больных в каждой группе составило 10 человек.

Средний возраст пациентов составил 64±8 лет, причем средний возраст пациентов возрастного фенотипа оказался наибольшим — 70±7 лет, при посттравматическом, метаболическом и смешанном ОА он был 61±9, 63±7 и 60±6 лет соответственно. Средняя клиническая длительность гонартроза 10±3 года, заболевание дебютировало в возрасте примерно 52±5 лет.

У всех пациентов-представителей каждого фенотипа проведено морфологическое исследование СХ. Интраоперационный материал, представляющий собой опил большеберцовой кости, изучали макроскопически: в медиальном и латеральном мышечках большеберцового плато оценивали состояние поверхности и цвет хряща, наличие обнажения субхондральной кости. Для проведения микроскопического исследования из дистального опиала в наиболее нагружаемой области медиального мышечка вырезали фрагменты, включающие хрящ и прилежащую субхондральную кость. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 5–6 сут, затем промывали в проточной воде в течение 12 ч. Затем объекты подвергали декальцинации, используя 25% раствор трилона Б (этилендиаминтетрауксусная кислота) с добавлением 40% раствора гидроксида натрия (5 мл на 1000 мл декальцинирующей смеси). Степень декальцинации контролировали специальной иглой. Через 30–35 сут объекты помещали в 5% раствор алюмокалиевых квасцов на 24 ч, затем кусочки промывали в проточной воде, дегидратировали в спирте возрастающей кре-

пости (70—100°) и заливали в парафин. Изготовление гистологических срезов толщиной 5—6 мкм осуществляли на ротационном микротоме МПС-2. После депарафинирования срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином по стандартной методике [16]. Для специфического выявления основного вещества хрящевого матрикса гликозаминогликанов (гиалуроновой кислоты) окрашивали 0,5% толуидиновым синим при рН 7,4; 4,7 и проводили контроль (обработка гиалуронидазой).

Для определения тяжести ОА использовали Шкалу полуквантитативной гистохимической оценки состояния хряща по Н. Mankin (1971), а также Шкалу оценки гистопатологии хряща OARSI (2006). Морфометрическое исследование осуществляли по общепринятым принципам с использованием окуляра-микрометра МОВ-1-1.5\*у 4,2 при увеличении в 8 раз для определения средней толщины СХ [17].

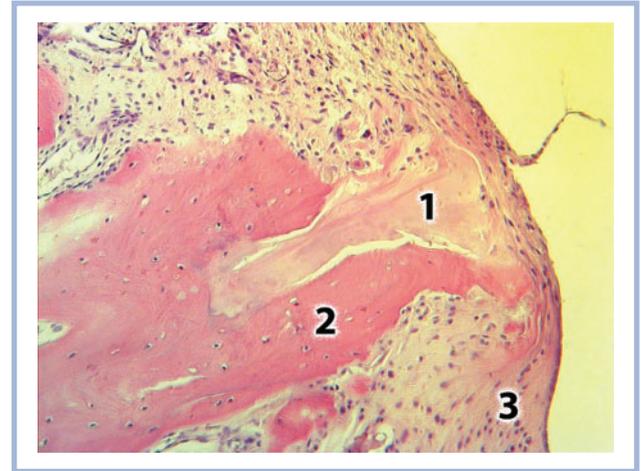
Для обработки статистических количественных данных использовали пакет программ Statistica 10.0. Провели подсчет среднеарифметических значений и стандартных отклонения ( $M \pm \delta$ ). Для проверки достоверности различий между исследуемыми группами использовали *t*-критерий Стьюдента. Для всех показателей была отвергнута нулевая гипотеза на уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты исследования

СХ пациентов с возрастным фенотипом ОА (рис. 1) характеризовался значительными изменениями гистоархитектоники. На поверхности хряща располагались многочисленные глубокие трещины, проникающие до кальцифицированного хряща, иногда разделяющие его на отдельно расположенные фрагменты. Поверхностная зона отсутствовала. Клеточный состав представлен кластерами из 7—27 клеток, между которыми располагались единичные хондроциты на фоне обширных бесклеточных пространств. Кластеры чаще обнаруживались в поверхностно-промежуточных отделах матрикса хряща по краю трещин. Матрикс хряща выглядел негетерогенным, с преимущественно диффузным разволокнением. Базофильная линия не визуализировалась. Толщина СХ была незначительная (таблица). На отдельных участках он истончался, местами вплоть до обнажения субхондральной кости. На этих участках она выпячивалась в сторону суставной щели, образуя с оставшимися фрагментами хрящевой ткани единую по высоте поверхность, иногда была покрыта рыхлым синовиальным паннусом, переходящим на хрящевую поверхность единым фронтом. В половине случаев наблюдалась васкуляризация и оксификация СХ путем проникновения сосудов из подлежащей кости и образования около них новых очагов костной ткани. При окрашивании толуидиновым синим (рис. 2) метахромазия в виде слабого бледно-фиолетового цвета сохранялась в глубоких отделах СХ, в поверхностных и промежуточных отсутствовала или была резко снижена, интенсивность окрашивания в данной группе оказалась наименьшей.

СХ пациентов с ОА посттравматического генеза имел выраженные нарушения зонального строения (рис. 3). Подлежащая субхондральная кость не обнажалась, но общая толщина СХ значительно уменьшалась. Поверхностные хондроциты отсутствовали, край хряща покрыт глубокими трещинами, проникающими в промежуточную зону. Хондроциты были мелкими, располагались неравномерно и образовывали кластеры в среднем по 10, достигая

35—50 клеток. Кластеры могли располагаться во всех зонах суставного хряща. Между ними располагались единичные хондроциты в состоянии гибели. Матрикс СХ выглядел негетерогенным и характеризовался видимым очаговым или диффузным разволокнением. В местах регенерации дефектов гиалиновый хрящ замещался на волокнистый. Базофильная линия отсутствовала, реже удваивалась и была

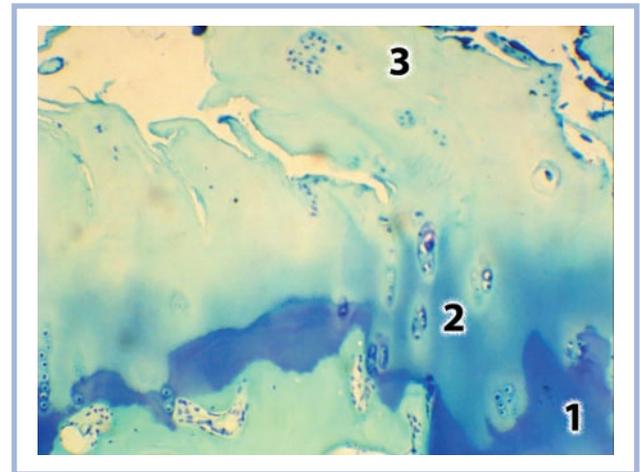


**Рис. 1.** Суставной хрящ коленного сустава пациентов с возрастным фенотипом остеоартроза.

1 — суставной хрящ; 2 — субхондральная кость; 3 — синовиальный паннус. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ .

**Fig. 1.** Articular cartilage of knee joint of patients with an age-related phenotype of osteoarthritis.

1 — articular cartilage; 2 — subchondral bone; 3 — synovial pannus. H&E,  $\times 150$ .

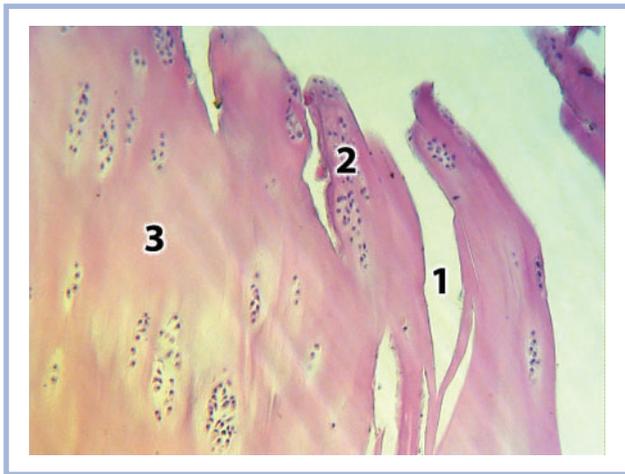


**Рис. 2.** Суставной хрящ коленного сустава пациентов с возрастным фенотипом остеоартроза.

1 — сохранение окрашивания (метахромазии); 2 — уменьшение окрашивания (ослабление метахромазии); 3 — полное отсутствие окрашивания матрикса (отсутствие метахромазии). Окраска толуидиновым синим,  $\times 150$ .

**Fig. 2.** Articular cartilage of knee joint of patients with an age-related phenotype of osteoarthritis.

1 — preservation of coloring (metachromasia); 2 — decrease in coloring (weakening of metachromasia); 3 — complete absence of coloring of matrix (lack of metachromasia). Toluidine blue staining,  $\times 150$ .

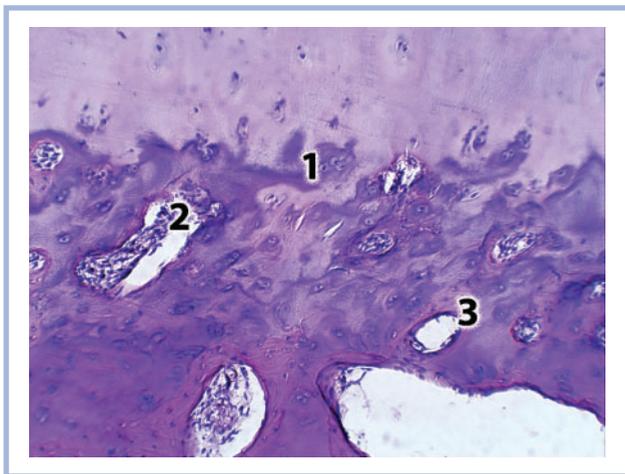


**Рис. 3.** Суставной хрящ коленного сустава пациентов с посттравматическим фенотипом остеоартроза.

1 — глубокие трещины на поверхности; 2 — кластеры хондроцитов; 3 — бесклеточное пространство. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ .

**Fig. 3.** Joint cartilage of knee joint of patients with post-traumatic phenotype of osteoarthritis.

1 — deep fissures on surface; 2 — clusters of chondrocytes; 3 — cell-free space. H&E,  $\times 150$ .



**Рис. 4.** Суставной хрящ коленного сустава пациентов с метаболическим фенотипом остеоартроза.

1 — прерывание базофильной линии изогенными группами хондроцитов; 2 — прорастание сосудов в хрящ; 3 — формирование костной ткани вокруг новообразованных сосудов в хряще. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ .

**Fig. 4.** Articular cartilage of knee joint of patients with metabolic phenotype of osteoarthritis.

1 — interruption of basophilic line by isogenic groups of chondrocytes; 2 — vascular germination in cartilage; 3 — formation of bone tissue around newly formed vessels in the cartilage. H&E,  $\times 150$ .

прерывистой. Образование сосудистых каналов, проникающих в СХ, с новообразованием костной ткани не встречалось. У некоторых больных определялась «надхрящница» — синовиальный паннус на поверхности хряща. Окрашивание толуидиновым синим выявило ослабление метахромазии в поверхностной и промежуточных зонах СХ, на остав-

шихся участках определялась значительная интенсивность окраски темно-фиолетового цвета, иногда визуализировались волокна матрикса, окрашенные в розовый цвет.

СХ пациентов с метаболическим фенотипом ОА имел умеренно нарушенное зональное строение: у большинства пациентов присутствовал 1 ряд поверхностных хондроцитов, за которыми следовали промежуточная, глубокая зона и кальцифицированный хрящ. Суставная поверхность была неровной, с неглубокими трещинами и горизонтальными повреждениями поверхностной пластинки. Хондроциты располагались в составе изогенных групп по 2—5, реже до 10 клеток, отделенных друг от друга интертерриториальным матриксом. Разволокнение матрикса умеренное. У всех больных с метаболическим ОА обнаружена васкуляризация СХ с дальнейшим образованием новой костной ткани вокруг сосудистых каналов и разрушением хряща относительно подлежащей субхондральной кости (рис. 4). Базофильная линия имела неровные контуры, огибая отдельные клетки и сдвигая фронт минерализации к поверхности хряща. В некоторых случаях на значительном протяжении она отсутствовала. Нарушение целостности базофильной линии, пенетрация изогенными группами хондроцитов, сосудами из субхондральной кости или непосредственно элементами последней наблюдались у всех пациентов исследуемой группы. При окрашивании толуидиновым синим выявлено снижение метахромазии в поверхностной и верхних отделах промежуточной зон СХ, остальные участки окрашивались среднеинтенсивно.

СХ пациентов смешанного фенотипа ОА имел гетерогенное строение. Несмотря на нарушенную зональность, часто присутствовала поверхностная зона. Глубина трещин варьировала от незначительных по краю хряща до глубоких, проникающих в кальцифицированный хрящ. Большинство клеток подвергалось гипертрофии, они образовывали кластеры (по 13—35 клеток), между которыми располагались обширные бесклеточные участки матрикса. Кластеры обнаруживались чаще в глубокой зоне. Реже хондроциты располагались по 6—7 клеток относительно равномерно по всему хрящу. Матрикс хряща терял упорядоченную структуру и разволокнялся. В местах крупных дефектов поверхности СХ гиалиновый хрящ был замещен волокнистым. Базофильная линия была прерывистой или отсутствовала. У подавляющего большинства пациентов наблюдалось активное прорастание сосудистых каналов из субхондральной кости в подлежащий хрящ с разрушением его и последующей оссификацией. При использовании толуидинового синего выявлена гетероморфная картина метахромазии средней интенсивности окрашивания. В зонах с наиболее выраженными дегенеративными повреждениями она уменьшалась на всем протяжении СХ, в структурно сохранившихся участках присутствовала, за исключением поверхностной зоны.

При сравнительном количественном анализе морфологии СХ пациентов с возрастным, посттравматическим, метаболическим и смешанным ОА установлено наличие значительных структурно-функциональных преобразований во всех группах, результаты представлены в таблице.

Как видно из таблицы, при использовании морфологических шкал достоверные различия между группами выявлены по шкале Mankin. Наихудшие показатели состояния хряща обнаружены в возрастном и посттравматическом фенотипах, в то время как наилучшие — при метаболическом ОА. При оценке СХ с помощью шкалы OARSI достоверных различий между группами не было, однако наимень-

## Сравнительный анализ результатов морфологического исследования коленных суставов больных возрастного, посттравматического, метаболического и смешанного фенотипов остеоартроза

Шкала, показатель	Возрастной фенотип	Посттравматический фенотип	Метаболический фенотип	Смешанный фенотип
Результат морфологических шкал для оценки хряща:				
Шкала Mankin, баллы	8,4±2,4**	7,5±1,5*	5,9±1,7	7,0±1,6
Шкала OARSI, степень	3,5±0,5	3,4±0,8	2,6±0,7	3,5±0,3
Результат морфометрического метода исследования:				
Средняя толщина хряща, мкм	7206,2±1623,7	6171,4±2322,5	7533,3±1673,5	7522,2±2200,4

*Примечание.* Достоверность различий при сравнении: \* — с метаболическим остеоартрозом,  $p < 0,05$ ; \*\* — со смешанным остеоартрозом,  $p < 0,05$ .

шее количество баллов установлено также в метаболическом фенотипе ОА.

Наибольшая толщина СХ обнаружена при метаболическом и смешанном ОА, наименьшая — при возрастном и посттравматическом фенотипах, однако данный показатель не имел достоверных различий между исследуемыми группами.

### Обсуждение

Проведенное морфологическое исследование продемонстрировало, что наиболее выраженными дегенеративными изменениями СХ (в виде глубоких трещин, разволокнения, гипоклеточности, оголения субхондральной кости, резкого снижения содержания протеогликанов) характеризовался возрастной фенотип ОА. Можно предположить, что применение медленно действующих структурно-модифицирующих препаратов в данной группе малоэффективно, так как субстрат (СХ) практически отсутствует. Посттравматический фенотип ОА отличался неравномерными дефектами поверхности СХ с активацией репаративных механизмов (кластеризация хондроцитов, замещение волокнистым хрящом), поэтому в лечении необходимо стимулировать метаболизм и репаративные возможности хрящевой ткани. При метаболическом фенотипе ОА повреждение поверхности было незначительным, но преобладало поражение хряща со стороны субхондральной кости (пенетрация базофильной линии, васкуляризация, рост кости вокруг новообразованных сосудов хряща). Вероятно, роль субхондральной кости в развитии этого варианта заболевания требует более пристального внимания. Смешанный фенотип ОА имел гетерогенное строение, сочетая в себе как глубокие трещины, так и мелкие дефекты поверхности хряща, кластеризацию хондроцитов и гипоклеточность, очаговое и диффузное разволокнение матрикса, васкуляризацию хряща, формирование паннуса. Вероятно, лечебная тактика в этой группе должна учитывать преобладающее влияние конкретного фактора риска, а терапия пациента должна быть комплексной.

По шкалам Mankin и OARSI наибольшее поражение СХ зафиксировано в группе возрастного ОА, наименьшее — при метаболическом ОА. Обе шкалы однонаправленно характеризуют морфологические преобразования СХ, однако оценочная система Mankin точнее отражает особенности его структуры и имеет больший диапазон значений, вероятно поэтому ее результаты имели достоверные различия между фенотипами.

### Выводы

1. Остеоартроз является гетерогенной группой заболевания, в которую входят фенотипические варианты с различными морфологическими особенностями: возрастным, посттравматическим, метаболическим и смешанным.
2. Возрастной фенотип остеоартроза характеризуется наиболее выраженными дегенеративно-дистрофическими изменениями суставного хряща; посттравматический фенотип отличается выраженным неравномерным повреждением хряща с активацией репаративных механизмов; метаболический фенотип остеоартроза — преобладанием васкуляризации эндохондральной оссификации хряща при относительно неповрежденной поверхности; смешанный фенотип остеоартроза имеет вариабельную морфологическую картину.
3. Получена фундаментальная основа дифференцированного подхода в лечении разных категорий больных с гонартрозом.

### Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Т.В. Чернышева, В.С. Полякова  
Сбор и обработка материала — К.В. Корочина, В.С. Полякова  
Статистическая обработка — И.Э. Корочина  
Написание текста — К.В. Корочина, И.Э. Корочина  
Редактирование — Т.В. Чернышева, В.С. Полякова

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Насонов Е.Л., ред. *Российские клинические рекомендации. Ревматология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. Nasonov EL, ed. *Russian clinical guidelines. Rheumatology*. М.: GEOTAR-Media; 2017. (In Russ).
2. Dell'Isola A, Allan R, Smith S, Marreiros S, Steultjens M. Identification of clinical phenotypes in knee osteoarthritis: a systematic review of the literature. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016;17(1):425. <https://doi.org/10.1186/s12891-016-1286-2>

3. Jeremiase B, Welsing PMJ, Clair Fellows, Lafeber F, Willem Evert van Spil. SAT0499 Identification of biochemical phenotypes in knee osteoarthritis: longitudinal data from the finho biomarker consortium. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(suppl 2):964. (Conference: Annual European Congress of Rheumatology, 14-17 June, 2017). <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-eular.5825>
4. Kinds M, Marijnissen A, Viergever M, Emans P, Lafeber F, Welsing P. Identifying phenotypes of knee osteoarthritis by separate quantitative radiographic features may improve patient selection for more targeted treatment. *J Rheumatol*. 2013;40(6):891-902. <https://doi.org/10.3899/jrheum.121004>
5. Musumeci G, Aiello F, Szychlińska M, Di Rosa M, Castrogiovanni P, Mobasher A. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression. *Int J Mol Sci*. 2015;16(12):6093-6112. <https://doi.org/10.3390/ijms16036093>
6. Herrero-Beaumont G, Roman-Blas JA, Bruyère O, Cooper C, Kanis J, Maggi S, Rizzoli R, Reginster JY. Clinical settings in knee osteoarthritis: pathophysiology guides treatment. *Maturitas*. 2017;96:54-57. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.11.013>
7. Давыдов Д.А. Особенности морфологического строения и процессов ремоделирования костной ткани головки бедра при деформирующем артрозе различного генеза. *Политравма*. 2015;2:83-89.  
Davydov DA. The features of morphological structure and processes of bone remodeling in the femoral head with deforming arthrosis of various origins. *Politravma*. 2015;(2):83-89. (In Russ).
8. Раденска-Лоповок С.Г. *Ревматические заболевания. Морфологическая диагностика. Руководство для врачей.* Франк Г.А., Балабанова Р.М., ред. М.: Практическая медицина; 2014.  
Radenska-Lopovok SG. *Rheumatic diseases. Morphological diagnostics: a guide for doctors.* Frank G.A., Balabanova R.M., eds. M.: Prakticheskaya meditsina; 2014. (In Russ).
9. Ударцев Е.Ю. Роль воспаления в патогенезе посттравматического остеоартроза. *Цитокины и воспаление*. 2011;10(3):82-87.  
Udartsev EYu. The role of inflammation in pathogenesis of post-traumatic osteoarthritis. *Cytokines and Inflammation/Tsitokiny i vosspalenie*. 2011;10(3):82-87. (In Russ).
10. Hoshiyama Y, Otsuki S, Oda S, Kurokawa Y, Nakajima M, Jotoku T, Tamura R, Okamoto Y, Lotz MK, Neo M. Chondrocyte clusters adjacent to sites of cartilage degeneration have characteristics of progenitor cells. *J Orthop Res*. 2015;33(4):548-555. <https://doi.org/10.1002/jor.22782>
11. Walsh DA, Verghese P, Cook GJ, McWilliams DF, Mapp PI, Ashraf S, Wilson D. Lymphatic vessels in osteoarthritic human knees. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012;20(5):405-412. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.01.012>
12. Wyatt LA, Moreton BJ, Mapp PI, Wilson D, Hill R, Ferguson E, Scammell BE, Walsh DA. Histopathological subgroups in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(1):14-22. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2016.09.021>
13. Головач И.Ю., Заирный И.М., Семенов И.П. Посттравматический остеоартрит: воспалительные, клеточные и биомеханические механизмы прогрессирования заболевания (обзор). *Травма*. 2016;17(1):99-105.  
Golovach IYu, Zazirnyi IM, Semenov IP. Posttraumatic osteoarthritis: inflammatory, cellular and biomechanical mechanisms of disease progression (review). *Travma*. 2016;17(1):99-105. (In Russ).
14. Mankin HJ. Biochemical and metabolic aspects of osteoarthritis. *Orthop Clin North Am*. 1971;2(1):19-31.
15. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, Salter D, van den Berg WB. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14(1):13-29. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2005.07.014>
16. Меркулов Г.А. *Курс патологистологической техники.* 5-е изд. Л.: Медицина; 1969.  
Merkulov GA. *The course of histopathological technique.* 5<sup>th</sup> ed. Leningrad: Meditsina; 1969. (In Russ).
17. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия.* М.: Медицина; 1990.  
Avtandilov GG. *Medical morphometry.* M.: Meditsina; 1990. (In Russ).

Поступила 05.02.2020

Received 05.02.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Изменение экспрессии иммуногистохимических маркеров в регионарных метастазах рака молочной железы

© К.В. КОНЫШЕВ<sup>1,2</sup>, С.В. САЗОНОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** — оценить частоту случаев с дискордантным статусом рецепторов эстрогенов (РЭ), рецепторов прогестерона (РП), Her2/neu и Ki-67 клеток первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы (РМЖ), а также выявить закономерности в изменении экспрессии данных маркеров при метастазировании.

**Материал и методы.** Материал первичной опухоли и регионарных метастазов от 104 пациенток с диагнозом инвазивного РМЖ неспецифического типа исследовали иммуногистохимическим (ИГХ) методом с моноклональными антителами к РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67, а также методом SISH. Сравнивали частоту случаев с изменением статуса, повышением и понижением уровня экспрессии каждого биомаркера при метастазировании, а также уровень экспрессии биомаркеров в первичной опухоли и метастазах.

**Результаты и обсуждение.** Выявлено изменение статуса и уровня экспрессии при регионарном метастазировании РМЖ: РЭ в 10 (9,6%) и 67 (64,4%), РП в 17 (16,3%) и 64 (61,5%), Her2/neu в 9 (8,6%) и 52 (50,0%), Ki-67 в 37 (35,6%) и 47 (45,2%) случаях из 104 соответственно. В группах с умеренным уровнем экспрессии РЭ и РП в клетках первичной опухоли обнаружены повышение уровня экспрессии каждого типа гормональных рецепторов, а также корреляция таких изменений (коэффициент корреляции 0,67). Выявлено достоверное снижение уровня экспрессии Her2/neu в метастатической ткани в случае с неопределенным (2+) уровнем экспрессии Her2/neu в клетках первичной опухоли, которое сопровождается сохранением Her2/neu-статуса опухоли (84,2% случаев) и повышением уровня экспрессии РЭ.

**Заключение.** В исследовании продемонстрировано, что для части пациенток с местно-распространенным РМЖ недостаточно ИГХ-исследования только клеток первичной опухоли, поскольку из-за существующей дискордантности статуса РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67 в ткани регионарных метастазов в таких случаях может потребоваться иной терапевтический подход. Выявлены закономерности и взаимосвязи изменений уровня экспрессии этих биомаркеров при регионарном метастазировании РМЖ, расширяющие представления о биологии опухолей.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, метастазы, гетерогенность опухоли, рецепторы эстрогенов, рецепторы прогестерона, Her2/neu, Ki-67.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Коньшев К. В. — <https://orcid.org/0000-0002-9816-0007>

Сазонов С. В. — <https://orcid.org/0000-0001-7064-0079>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Коньшев К. В., Сазонов С. В. Изменение экспрессии иммуногистохимических маркеров в регионарных метастазах рака молочной железы. *Архив патологии*. 2020;82(4):19–26. <https://doi.org/10.17116/patol20208204119>

## Changes in expression of immunohistochemical markers in regional breast cancer metastases

© K.V. KONYSHEV<sup>1,2</sup>, S.V. SAZONOV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russia;

<sup>2</sup>Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

### ABSTRACT

**Objective.** To assess the incidence of discordant status of estrogen receptors (REs), progesterone receptors (RPs), Her2/neu and Ki-67 cells of primary tumors and regional metastases in breast cancer (BC), as well as to identify patterns in the expression of these markers during metastasis.

**Material and methods.** The material of the primary tumor and regional metastases from 104 patients with a diagnosis of invasive breast cancer of a non-specific type was studied by the immunohistochemical (IHC) method with monoclonal antibodies to RE, RP, Her2/neu and Ki-67, as well as by SISH method. The frequency of cases was compared with a change in status, increase and decrease in the expression level of each biomarker during metastasis, as well as the expression level of biomarkers in the primary tumor and metastases.

**Results.** A change in the status and expression level during regional metastasis of breast cancer was revealed: RE in 10 (9.6%) and 67 (64.4%), RP in 17 (16.3%) and 64 (61.5%), Her2/neu in 9 (8.6%) and 52 (50.0%), Ki-67 in 37 (35.6%) and 47 (45.2%) cases out of 104, respectively. In groups with a moderate level of expression of RE and RP in the cells of the primary tumor, an increase

in the expression level of each type of hormonal receptors was found, as well as a correlation of such changes (correlation coefficient 0.67). A significant decrease in the level of Her2/neu expression in metastatic tissue was revealed in the case of uncertain (2+) level of Her2/neu expression in cells of the primary tumor, which is accompanied by the preservation of Her2/neu status of tumor (84.2% of cases) and an increase in the level of expression of RE.

**Conclusion.** The study demonstrated that for some patients with locally advanced breast cancer, IHC studies of only primary tumor cells are insufficient, because due to the existing discordance of status of RE, RP, Her2/neu and Ki-67 in the tissue of regional metastases in such cases, another therapeutic approach is needed. The patterns and relationships of changes in the level of expression of these biomarkers during regional metastasis of breast cancer were revealed, expanding the understanding of tumor biology.

**Keywords:** breast cancer, metastases, tumor heterogeneity, estrogen receptors, progesterone receptors, Her2/neu, Ki-67.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Konyshov K.V. — <https://orcid.org/0000-0002-9816-0007>

Sazonov S.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7064-0079>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Konyshov KV, Sazonov SV. Changes in expression of immunohistochemical markers in regional breast cancer metastases. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):19–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/ptol20208204119>

Определение суррогатного биологического подтипа опухоли на основе результатов иммуногистохимического (ИГХ) исследования статуса рецепторов эстрогенов (РЭ), рецепторов прогестерона (РП), онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki-67 играет существенную роль в выборе адекватной терапевтической тактики при лечении больных раком молочной железы (РМЖ). При этом дискордантность статуса каждого из биомаркеров в клетках первичной опухоли и метастазов (как отдаленных, так и регионарных) может приводить к неполному ответу опухоли на терапию, назначенную на основании результатов исследования первичной опухоли [1–4]. История исследования данной формы гетерогенности опухолей при РМЖ насчитывает более 35 лет, и к настоящему времени в научной среде сложилось единое мнение о биологической, а не искусственной природе подобных различий [2, 5–8]. Публикуются результаты исследований, демонстрирующие повышение безрецидивной и общей выживаемости пациенток после генерализации РМЖ, которым была назначена противоопухолевая терапия с учетом результатов повторного тестирования статуса РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67 в клетках отдаленных метастазов [1]. По данным разных авторов, частота случаев с дискордантным статусом РЭ составляет от 3 до 62%, РП — от 12 до 54%, Her2/neu — от 0 до 24%, Ki-67 — от 4 до 39% [3, 9–14].

В большинстве публикаций проводится оценка влияния ретестирования статуса ключевых ИГХ-маркеров в клетках отдаленных метастазов на эффект терапии. При этом опухолевая гетерогенность РМЖ, проявляющаяся в дискордантности статуса РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67 в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов также заслуживает внимания, поскольку существование клонов клеток, нечувствительных к назначенной терапии, может привести к снижению ее эффективности [2].

**Цель исследования** — оценить частоту случаев с дискордантным статусом РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67 клеток первичной опухоли и регионарных метастазов при РМЖ, а также выявить закономерности в изменении экспрессии данных маркеров при метастазировании.

## Материал и методы

В исследование вошли 104 пациентки в соответствии со следующими критериями включения: диагноз инвазивного РМЖ неспецифического типа; наличие метастатичес-

кого поражения регионарных лимфатических узлов; проведение мастэктомии с удалением регионарных лимфатических узлов. Критерием исключения являлось проведение неоадьювантной терапии. Возраст пациенток на момент включения в исследование составлял от 33 до 83 лет, медиана возраста — 63 года, верхний квартиль — 70 лет, нижний квартиль — 55 лет, что позволяет косвенно судить о менстуральном статусе.

Фиксированный формалином, залитый в парафиновые блоки материал первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов исследовали гистологическим методом, после чего материал одного из блоков первичной опухоли и всех блоков, содержащих пораженные метастазами регионарные лимфатические узлы, исследовали ИГХ-методом. Для этого срезы толщиной 5 мкм окрашивали моноклональными антителами к рецепторам эстрогенов (клон 1D5, Dako, Дания), рецепторам прогестерона (клон PgR636, Dako, Дания), Ki-67 (клон MIB-1, Dako, Дания) с использованием автостейнера Dako Link (система визуализации — Dako EnVision Flex), а также моноклональными антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США) при помощи автостейнера Ventana Benchmark GX (система визуализации — Ventana UltraView Universal DAB). Ядра клеток докрашивали гематоксилином.

Для оценки результатов окрашивания опухолевых клеток антителами к стероидным гормонам использовали систему оценки D. Allred [15].

Результаты ИГХ-окрашивания ткани опухоли с антителами к Her2/neu оценивали в соответствии с рекомендациями Американского общества клинической онкологии и Коллегии американских патологов 2013 г. (ASCO/CAP 2013) [16].

Уровень экспрессии маркера пролиферации Ki-67 определялся как доля клеток с окрашенными ядрами среди 500 опухолевых клеток в полях зрения с наибольшей митотической активностью [17].

Материал первичной опухоли в случаях с неопределенным (2+) уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu исследовали методом усиленной серебряной гибридизации *in situ* (SISH) для оценки амплификации гена *HER2* (набор зондов INFORM HER2 Dual ISH DNA ProbCocktail, Ventana, США, автостейнер Ventana Benchmark XT).

Результаты SISH-исследования оценивали при помощи световой микроскопии (x630) в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013 г. [16].

Частота изменений статусов РЭ, РП и Her2/neu с позитивного на негативный и с негативного на позитивный, Ki-67 с низкого уровня пролиферации (до 20%) на высокий (20% и более) и с высокого на низкий в клетках опухоли при регионарном метастазировании РМЖ сравнивали при помощи точного теста Фишера [18].

Для исследования изменений уровня экспрессии рецепторов к стероидным гормонам, онкобелка Her2/neu и маркера пролиферации Ki-67 при регионарном метастазировании РМЖ все 104 случая распределяли на группы в зависимости от уровня экспрессии каждого маркера в ткани первичной опухоли. Так, для исследования изменений уровня экспрессии рецепторов эстрогенов сформировано три группы: 1-я — экспрессия отсутствует (0 или 2 балла), 31 случай, 2-я — промежуточный уровень экспрессии (3–6 баллов), 43 случая, 3-я — высокий уровень экспрессии (7–8 баллов), 30 случаев. Для исследования изменений экспрессии рецепторов прогестерона материал распределяли также на три группы: 1-я — экспрессия отсутствует (0 или 2 балла), 46 случаев, 2-я — промежуточный уровень экспрессии (3–6 баллов), 42 случая, 3-я — высокий уровень экспрессии (7–8 баллов), 16 случаев. При исследовании изменений экспрессии онкобелка Her2/neu выделено четыре группы: 1-я — экспрессия отсутствует (0), 61 случай, 2-я — низкий уровень экспрессии (1+), 12 случаев, 3-я — неопределенный уровень экспрессии (2+), 19 случаев, 4-я — высокий уровень экспрессии (3+), 12 случаев. Для исследования изменений экспрессии маркера пролиферации Ki-67 сформировано три группы: 1-я — низкий уровень экспрессии (10% и менее), 29 случаев, 2-я — промежуточный уровень экспрессии (10–30%), 37 случаев, 3-я — высокий уровень экспрессии (30% и более), 38 случаев.

В случаях, где количество пораженных метастазами лимфатических узлов было 2 и более, для дальнейшего анализа отбирали 1 лимфатический узел, в котором клетки метастаза демонстрировали наиболее выраженное отличие уровня экспрессии рецепторов эстрогенов, рецепторов прогестерона, Her2/neu и Ki-67 от клеток первичной опухоли.

В описанных группах проводили сравнение уровня экспрессии каждого из исследованных биомаркеров в ткани

первичной опухоли и регионарных метастазов с использованием знаково-рангового теста Вилкоксона, а также частоты случаев с повышением и понижением уровня экспрессии каждого биомаркера при метастазировании при помощи точного теста Фишера.

Для выявления корреляционных связей между изменением уровня экспрессии рецепторов эстрогенов и рецепторов прогестерона при регионарном метастазировании РМЖ применяли ранговую корреляцию Спирмена.

Для оценки частот сходности положительных и отрицательных Her2/neu-статусов первичной и метастатической опухолей рассчитывалась каппа Козна.

Статистический анализ проводили с использованием программ Gretl и MS Excel 2007. Принятый уровень статистической значимости ( $p$ ) составлял 0,05 и менее.

## Результаты и обсуждение

РЭ-статус клеток метастазов и первичной опухоли различался в 10 случаях из 104 (частота 9,6%, нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала (ДИ) для частоты 5,0–17,4%), изменение статуса с положительного на отрицательный наблюдалось в 5 случаях из 73 (6,8%, 95% ДИ 2,5–15,9%), с отрицательного на положительный — в 5 случаях из 31 (16,1%, 95% ДИ 6,1–34,5%) ( $p=0,16$ ).

Общая частота изменений, частота повышения и понижения экспрессии рецепторов эстрогенов при регионарном метастазировании РМЖ в выборке и при группировке случаев приведены в **табл. 1**.

Статистически значимое различие частоты случаев с повышением и понижением уровня экспрессии рецепторов эстрогенов выявлено при анализе всей выборки и случаев 2-й группы.

Медианы уровня экспрессии РЭ в клетках первичной опухоли и метастазов приведены в **табл. 2**.

Достоверное различие медиан значений уровня экспрессии РЭ наблюдалось при анализе всей выборки и случаев 2-й группы (**рис. 1**).

РП-статус различался в 17 случаях из 104 (16,3%, 95% ДИ 10,1–25,2%), изменение статуса с положительного на отрицательный выявлено в 7 случаях из 58 (12,1%, 95% ДИ

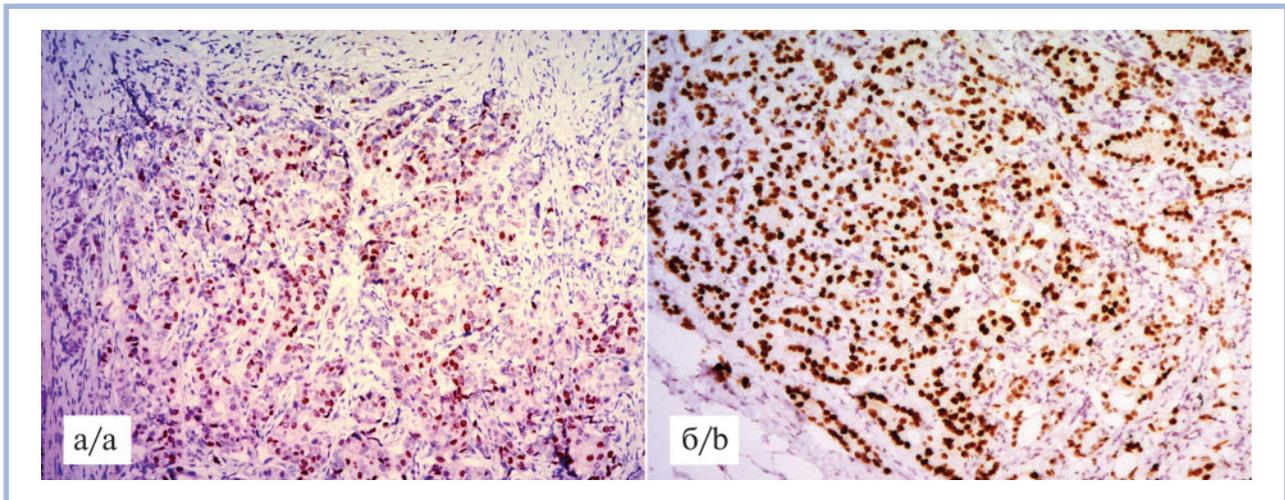
**Таблица 1.** Частота различий экспрессии рецепторов эстрогенов в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью (частота; нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала для частоты)

Группа	Число случаев	Изменение уровня экспрессии (%)	Повышение уровня экспрессии (%)	Понижение уровня экспрессии (%)	$p$
Выборка	104	67 (64,4; 54,4–73,4)	49 (47,1; 37,3–57,1)	18(17,3; 10,1–26,3)	<0,05
1-я	31	8 (25,8; 12,5–44,9)	7 (22,6; 10,3–41,5)	1 (3,2; 0,2–18,5)	0,053
2-я	43	42(97,7; 86,2–99,9)	35 (81,4; 66,1–91,1)	7 (16,3; 7,3–31,3)	<0,001
3-я	30	17 (56,7; 37,7–74,0)	7 (23,3; 10,6–42,7)	10 (33,3; 17,9–52,9)	0,57

**Таблица 2.** Уровень экспрессии рецепторов эстрогенов в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов в баллах по Allred: медиана (межквартильный размах)

Группа	Число случаев	Экспрессия РЭ в клетках первичной опухоли	Экспрессия РЭ в клетках метастазов	$p$
Выборка	104	5,5* (7)	7 (7)	<0,05
1-я	31	0 (0)	0 (0)	—
2-я	43	6 (1)	7 (1)	0,0017
3-я	30	7 (1)	7 (1)	0,39

*Примечание.* \* — в выборках с четным набором наблюдений при расчете медианы вычисляется среднее арифметическое значений  $n/2$  и  $n/2+1$ , которые в нашей выборке составили 5 и 6 баллов по шкале Allred соответственно, в связи с чем медиана имеет дробное значение.



**Рис. 1.** Экспрессия рецепторов эстрогенов в первичной опухоли (а) и регионарном метастазе (б) в случае из 2-й группы. а — экспрессия РЭ на уровне 5 баллов по Allred; б — экспрессия РЭ на уровне 7 баллов по Allred; а, б — ИГХ-реакция с анти-РЭ-антителами,  $\times 100$ .

**Fig. 1.** Expression of estrogen receptors in the primary tumor (a) and locoregional metastasis (b) in the case of the second group.

a — expression of ER, 5 Allred points; b — expression of ER, 7 Allred points; a, b — immunohistochemical reaction with anti-ER antibodies;  $\times 100$ .

5,4—23,9%), с отрицательного на положительный — в 10 случаях из 46 (21,7%, 95% ДИ 11,4—36,8%) ( $p=0,28$ ).

Частота изменений, повышения и понижения экспрессии рецепторов прогестерона при регионарном метастазировании РМЖ в выборке и при группировке случаев приведены в **табл. 3**.

Статистически значимое различие частоты случаев с повышением и понижением уровня экспрессии рецепторов прогестерона выявлено при анализе всей выборки и случаев 1-й и 2-й групп.

Медианы уровней экспрессии РП в клетках первичной опухоли и метастазов приведены в **табл. 4**.

Достоверное различие медиан значений уровня экспрессии РП наблюдалось при анализе всей выборки и случаев 2-й группы (**рис. 2**).

Her2/neu-статус различался в 9 случаях из 104 (8,6%, 95% ДИ 4,3—16,2%), изменение статуса с положительного на отрицательный наблюдалось в 5 случаях из 16 (31,2%, 95% ДИ 12,1—58,5%), с отрицательного на положительный — в 4 случаях из 88 (4,6%, 95% ДИ 1,5—11,9%) ( $p=0,004$ ).

Общая частота изменений, частота повышения и понижения экспрессии онкобелка Her2/neu при регионарном метастазировании РМЖ в выборке и при группировке случаев приведены в **табл. 5**.

Статистически значимое различие частоты случаев с повышением и понижением уровня экспрессии Her2/neu определено при анализе случаев 1-й, 2-й и 3-й групп.

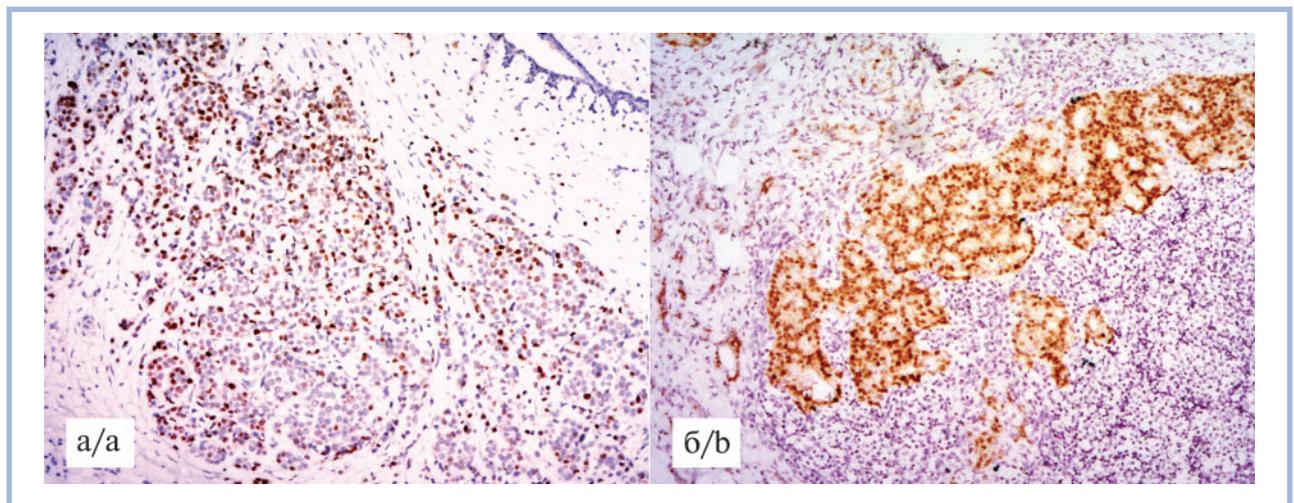
Медианы уровней экспрессии Her2/neu в клетках первичной опухоли и метастазов приведены в **табл. 6**.

**Таблица 3.** Частота различий экспрессии рецепторов прогестерона в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью (частота; нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала для частоты)

Группа	Число случаев	Изменение уровня экспрессии (%)	Повышение уровня экспрессии (%)	Понижение уровня экспрессии (%)	<i>p</i>
Выборка	104	64(61,5; 51,5—70,8)	44 (42,3; 32,3—52,4)	20 (19,2; 12,4—28,4)	0,0005
1-я	46	14 (30,4; 18,2—45,9)	12 (26,1; 14,8—41,4)	2 (4,4; 0,8—16,0)	0,007
2-я	42	41 (97,6; 85,9—99,9)	29 (69,1; 52,8—81,9)	12 (28,6; 16,2—44,8)	0,0004
3-я	16	9 (56,3; 30,6—79,3)	3 (18,8; 5,0—46,3)	6 (37,5; 16,3—64,1)	0,433

**Таблица 4.** Уровень экспрессии рецепторов прогестерона в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов в баллах по Allred: медиана (межквартильный размах)

Группа	Число случаев	Экспрессия РП в клетках первичной опухоли	Экспрессия РП в клетках метастазов	<i>p</i>
Выборка	104	3 (6)	6 (7)	0,002
1-я	46	0 (0)	0 (2)	—
2-я	42	5 (2)	6,5 (3)	0,03
3-я	16	7 (1)	7 (1,75)	0,23



**Рис. 2.** Экспрессия рецепторов прогестерона в первичной опухоли (а) и регионарном метастазе (б) в случае из 2-й группы.

а — экспрессия РП на уровне 5 баллов по Allred; б — экспрессия РП на уровне 7 баллов по Allred; а, б — ИГХ-реакция с анти-РП-антителами,  $\times 100$ .

**Fig. 2.** Expression of progesterone receptors in the primary tumor (a) and locoregional metastasis (b) in the case of the second group.

a — expression of PR, 5 Allred points, b — expression of PR, 7 Allred points; a, b — immunohistochemical reaction with anti-PR antibodies;  $\times 100$ .

Достоверное различие медиан значений уровня экспрессии Her2/neu наблюдалось при анализе случаев 3-й группы (рис. 3).

Уровень пролиферации (Ki-67) клеток первичной и метастатической опухоли различался в 37 случаях из 104 (35,6%, 95% ДИ 26,6—45,6%), изменение уровня пролиферации с высокого на низкий наблюдалось в 23 случаях из 60 (38,3%, 95% ДИ 26,3—51,8%), с низкого на высокий — в 14 случаях из 44 (31,8%, 95% ДИ 19,1—47,7%) ( $p=0,54$ ).

Общая частота изменений, частота повышения и понижения экспрессии маркера пролиферации Ki-67 при ре-

гионарном метастазировании РМЖ в выборке и при группировке случаев приведены в табл. 7.

Медианы уровня экспрессии Ki-67 в клетках первичной опухоли и метастазов указаны в табл. 8.

Достоверное различие медиан значений уровня экспрессии Ki-67 не выявлено.

Из 43 случаев с умеренным уровнем экспрессии рецепторов эстрогенов (2-я группа) в ткани первичной опухоли наблюдалось повышение уровня экспрессии РЭ в метастазах в 35 случаях, в 26 из которых выявлено повышение и уровня экспрессии рецепторов прогестерона, а снижение

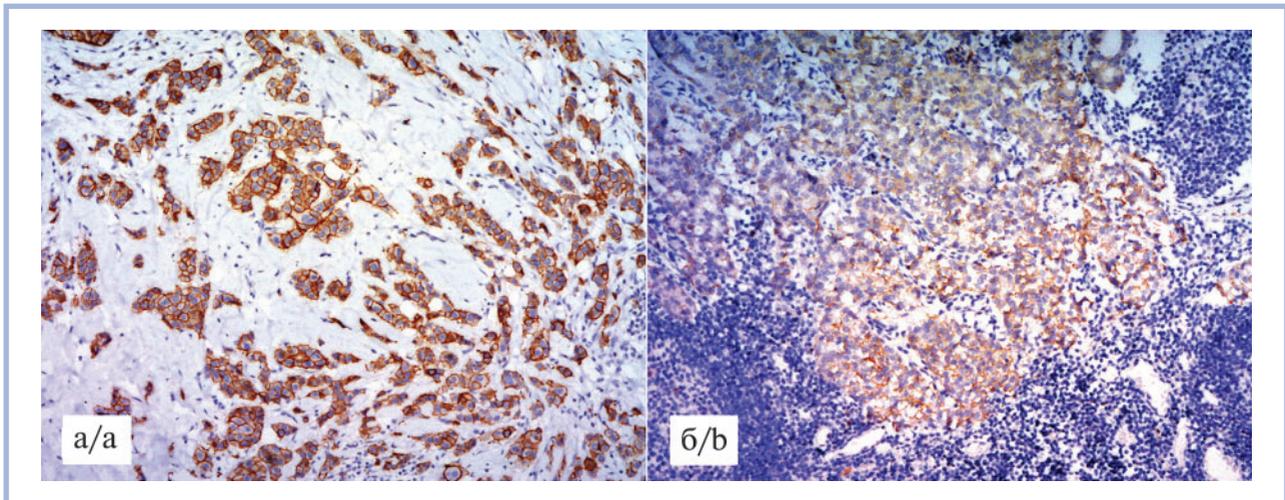
**Таблица 5.** Частота различий экспрессии онкобелка Her2/neu в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью (частота; нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала для частоты)

Группа	Число случаев	Изменение уровня экспрессии (%)	Повышение уровня экспрессии (%)	Понижение уровня экспрессии (%)	<i>p</i>
Выборка	104	52 (50,0; 40,1—59,9)	22 (21,1; 14,0—30,5)	30 (28,9; 20,6—38,7)	0,26
1-я	61	19 (31,2; 20,3—44,4)	19 (31,2; 20,3—44,4)	0	<0,001
2-я	12	10 (83,3; 50,1—97,1)	2 (16,7; 2,9—49,1)	8 (66,7; 35,4—88,7)	0,036
3-я	19	17 (89,5; 65,5—98,2)	1 (5,3; 0,3—28,1)	16 (84,2; 59,5—95,8)	<0,001
4-я	12	6 (50; 22,3—77,7)	0	6 (50; 22,3—77,7)	0,014

**Таблица 6.** Уровень экспрессии онкобелка Her2/neu в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов: медиана (межквартильный размах)

Группа	Число случаев	Экспрессия Her2/neu в клетках первичной опухоли	Экспрессия Her2/neu в клетках метастазов	<i>p</i>
Выборка	104	0 (2)	0 (1)	0,15
1-я	61	0	0 (1)	—
2-я	12	1+	0 (1)	0,07
3-я	19	2+	1 (1)	<0,001
4-я	12	3+	2,5* (2)	>0,05

*Примечание.* \* — в выборках с четным набором наблюдений при расчете медианы вычисляется среднее арифметическое значение  $n/2$  и  $n/2+1$ , которые в нашей выборке составили 2+ и 3+ соответственно, в связи с чем медиана имеет дробное значение.



**Рис. 3.** Экспрессия онкобелка Her2/neu в первичной опухоли (а) и регионарном метастазе (б) в случае из 3-й группы. а — экспрессия Her2/neu на уровне 2+; б — экспрессия Her2/neu на уровне 1+; а, б — ИГХ-реакция с анти-Her2/neu-антителами,  $\times 100$ .

**Fig. 3.** Expression of Her2/neu in the primary tumor (a) and locoregional metastasis (b) in the case of the second group. а — Her2/neu expression 2+, b — Her2/neu expression 1+; a, b — immunohistochemical reaction with anti-Her2/neu antibodies;  $\times 100$ .

уровней экспрессии РЭ и РП при метастазировании — в 7 и 4 случаях соответственно. Доля случаев с одинаковым направлением изменений уровня экспрессии РЭ и РП в этой группе составила 69,8% (95% ДИ 53,7–82,3%). Коэффициент ранговой корреляции Спирмена для разностей уровня экспрессии РЭ и РП в ткани метастаза и первичной опухоли составил 0,67 (положительная корреляционная связь средней силы) ( $p < 0,001$ ).

Поскольку уровень экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли во всех случаях 3-й группы составлял 2+, этот материал был исследован с применением SISH-метода для оценки Her2/neu-статуса первичной опухоли. Из 19 случаев, вошедших в 3-ю группу, амплификация гена ErbB2 в ткани первичной опухоли обнаружена в четырех случаях, в одном из которых уровень экспрессии Her2/neu в

ткани метастаза составлял 3+; в 15 случаях данный ген не был амплифицирован в клетках первичной опухоли, а белок Her2/neu не демонстрировал гиперэкспрессию в клетках метастазов. Частота совпадения Her2/neu-статуса ткани первичной и метастатической опухоли в 3-й группе составила 84,2% (95% ДИ 59,5–95,8%), каппа Коэна — 0,34 (удовлетворительная сходимость) [19].

При исследовании уровня экспрессии рецепторов эстрогенов в ткани первичной опухоли и изменений уровня экспрессии РЭ при регионарном метастазировании в случаях 3-й группы с негативным Her2/neu-статусом опухолевой ткани в первичном и метастатическом очаге ( $n=15$ ) выявлено 8 случаев с более высоким уровнем экспрессии РЭ в ткани метастазов, чем в ткани первичной опухоли (53,3%, 95% ДИ 27,4–77,7%), и 2 случая, в которых уровень экспрессии

**Таблица 7.** Частота различий экспрессии Ki67 в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью (частота; нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала для частоты) Статистически значимое различие частоты случаев с повышением и понижением уровня экспрессии Ki-67 было выявлено при анализе случаев 1-й и 3-й групп

Группа	Число случаев	Изменение уровня экспрессии (%)	Повышение уровня экспрессии (%)	Понижение уровня экспрессии (%)	<i>p</i>
Выборка	104	47 (45,2; 35,5–55,2)	24 (23,1; 15,6–32,6)	23 (22,1; 14,8–31,5)	>0,999
1-я	29	6 (20,7; 8,7–40,3)	6 (20,7; 8,7–40,3)	0	0,023
2-я	37	13 (35,1; 20,7–52,6)	10 (27,0; 14,4–44,4)	3 (8,1; 2,1–23,0)	0,064
3-я	38	28 (73,7; 56,6–86,0)	8 (21,1; 10,1–37,8)	20 (52,6; 36,1–68,7)	0,008

**Таблица 8.** Уровень экспрессии Ki-67 в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов в процентах: медиана (межквартильный размах)

Группа	Число случаев	Экспрессия Ki-67 в клетках первичной опухоли	Экспрессия Ki-67 в клетках метастазов	<i>p</i>
Выборка	104	20 (27,5)	15 (30)	0,71
1-я	29	10 (5)	10 (12,5)	0,08
2-я	37	20 (10)	15 (25)	0,52
3-я	38	45 (40)	30 (60)	0,55

РЭ в ткани метастазов был ниже, чем в ткани первичной опухоли (13,3%, 95% ДИ 2,3—41,6%). Различия полученных частот достоверно ( $p=0,05$ , точный тест Фишера).

Дискордантность статуса рецепторов эстрогенов в клетках первичной опухоли и регионарных метастазов наблюдалась в 9,6%, рецепторов прогестерона — в 16,3%, Her2/neu — в 8,6%, Ki-67 — в 35,6% случаев, достоверные различия обнаружены при сравнении частоты изменений статуса Ki-67 при метастазировании с частотами изменений других биомаркеров ( $p=0,003$ ). При этом не выявлено достоверных различий частоты случаев с изменением статусов РЭ и РП с положительного на отрицательный и с отрицательно-го на положительный, Ki-67 с высокого уровня пролиферации на низкий и с низкого на высокий при регионарном метастазировании РМЖ, тогда как частота случаев с негативной конверсией Her2/neu-статуса преобладала над частотой случаев с позитивной конверсией статуса Her2/neu.

Частота случаев с дискордантностью Her2/neu-статуса (8,6%) существенно ниже, чем частота случаев с изменением уровня экспрессии Her2/neu (50%) в клетках регионарных метастазов, поскольку во многих случаях с изменением уровня экспрессии Her2/neu статус Her2/neu оставался неизменным, тогда как изменение статуса Her2/neu в каждом случае сопровождалось изменением уровня экспрессии этого биомаркера.

Взаимосвязи гетерогенности гистологических характеристик (степень структурной и клеточной дифференцировки) и уровней экспрессии исследованных биомаркеров в опухолевых клетках в первичной опухоли и регионарных метастазах РМЖ не обнаружено.

## Заключение

Дискордантный статус РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67 первичной опухоли и регионарных метастазов обнаружен в 9,6, 16,3, 8,6 и 35,6% изученных в исследовании случаев соответственно. Частота случаев с дискордантным статусом Ki-67 достоверно выше частоты случаев с дискордантностью статуса рецепторов. Отрицательный Her2/neu-статус метастазов при положительном Her2/neu-статусе первичной опухоли наблюдается чаще, чем изменение Her2/neu-статуса в противоположном направлении.

В клетках регионарных метастазов РМЖ при сравнении с первичной опухолью обнаружено повышение уровня экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в случае с умеренным уровнем экспрессии РЭ и РП в клетках пер-

вичной опухоли и снижение уровня экспрессии Her2/neu при сохранении Her2/neu-статуса в случае с неопределенным (2+) уровнем экспрессии этого биомаркера в клетках первичной опухоли. Уровень экспрессии Ki-67 в клетках опухоли при регионарном метастазировании РМЖ изменялся разнонаправленно.

Клетки с высоким уровнем экспрессии РЭ, входящие в состав опухоли, основная масса клеток которой экспрессирует РЭ умеренно, по-видимому, имеют преимущество при формировании метастазов и отличаются высоким уровнем экспрессии РП. В свою очередь метастазы, образованные такими клетками, отражают их фенотип. Такая закономерность объясняется функционированием рецепторов эстрогенов в качестве как транскрипционных факторов, в том числе для гена рецептора прогестерона, так и компонентов цитоплазматических сигнальных путей MAPK, PI3K, приводящих к эпителиомезенхимальному переходу клетки, и ROCK, ведущего к перестройке актина и приобретению клеткой подвижности [20—24]. Наряду с этим молекулы РЭ способны снижать транскрипцию неамплифицированного гена HER2 путем воздействия на кофакторы SRC и AP-2, что объясняет снижение уровня экспрессии Her2/neu в опухолевых клетках при метастазировании РМЖ в случае с неопределенным уровнем экспрессии (2+) этого биомаркера в клетках первичной опухоли [25, 26].

Дискордантность статуса рецепторов эстрогенов, рецепторов прогестерона, Her2/neu и Ki-67 в первичной опухоли и регионарных метастазах при РМЖ, по-видимому, потребует выработки новых специальных терапевтических подходов, поскольку проявление метастатической опухоли признаков иного биологического подтипа позволяет расширить арсенал средств противоопухолевой терапии.

*Работа выполнена в рамках государственного задания УГМУ №056-00145-19-00.*

### Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — К. В. Конышев, С. В. Сазонов

Сбор и обработка материала — К. В. Конышев

Статистическая обработка данных — К. В. Конышев

Написание текста — К. В. Конышев

Редактирование — С. В. Сазонов

### Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Колядина И. В., Андреева Ю. Ю., Франк Г. А., Поддубная И. В. Роль биологической гетерогенности при рецидивирующем и метастатическом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2018;80(6):62-67. Kolyadina IV, Andreeva YuYu, Frank GA, Poddubnaya IV. Role of biological heterogeneity in recurrent and metastatic breast cancer. *Archive of Pathology/Arkhiv patologii*. 2018;80(6):62-7. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20188006162>
2. Гордеева О. О., Жукова Л. Г., Колядина И. В., Ганьшина И. П. Оценка рецепторного статуса первичной опухоли молочной железы и синхронных регионарных метастазов: какова клиническая и прогностическая роль? *Сибирский онкологический журнал*. 2019;18(2):78-82. Gordeeva OO, Zhukova LG, Kolyadina IV, Ganshina IP. Assessment of the receptor status in primary breast cancer with synchronous locoregional metastases: prognostic and clinical role? *Siberian Journal of Oncology/Sibirskii onkologicheskii zhurnal*. 2019;18(2):78-82. (In Russ.). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-2-78-82>
3. Aurilio G, Disalvatore D, Pruneri G, Bagnardi V, Viale G, Curigliano G, Adamoli L, Munzone E, Sciandivasci A, De Vita F, Goldhirsch A, Nolè F. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *Eur J Cancer*. 2014;50(2):277-289. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.10.004>
4. Konyshov KV, Sazonov SV. Correlation of changes of estrogen receptor and progesterone receptor expression levels in locoregional metastases of breast cancer comparing with primary tumour. *Virchows Arch*. 2018;473(suppl 1):50.

5. McAnena PF, McGuire A, Ramli A, Curran C, Malone C, McLaughlin R, Barry K, Brown JAL, Kerin MJ. Breast cancer subtype discordance: impact on post-recurrence survival and potential treatment options. *BMC Cancer*. 2018;18(1):203. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4101-7>
6. Гатауллин И.Г., Хасанова А.И., Хусаинова Г.Н., Петров С.В., Хасанов Р.Ш. Обоснование выбора оптимальной схемы лечения больных метастатическим раком молочной железы. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2010;123(9):55-58. Gataullin IG, Khasanov AI, Khusainova GN, Petrov SV, Khasanov RSh. Rationale for optimal treatment of patients with metastatic breast cancer. *Kuban Scientific Medical Bulletin/Kubanskii nauchnyi meditsinskii vestnik*. 2010;123(9):55-58. (In Russ.).
7. Konyshev KV, Kazantseva NV, Sazonov SV. Change of Her2/neu protein expression level and Her2/neu status in local metastases of breast cancer with its equivocal (2+) expression in primary tumour. *Virchows Arch*. 2017;471(suppl 1):295-296.
8. Конышев К.В., Сазонов С.В. Взаимосвязь изменений уровней экспрессии маркера пролиферации Ki67 и рецепторов к эстрогену при регионарном метастазировании рака молочной железы. *Гены и клетки*. 2019;14(Приложение):117-118. Konyshev KV, Sazonov SV. Correlation of Ki67 and estrogen receptor levels changes in locoregional metastasis of breast cancer. *Genes and cells/Geny i kletki*. 2019;14(suppl):117-118. (In Russ.).
9. Lower EE, Khan S, Kennedy D, Vaughanman RP. Discordance of the estrogen receptor and HER-2/neu in breast cancer from primary lesion to first and second metastatic site. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2017;9:515-520. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S137709>
10. Erdem GU, Altundag K, Ozdemir NY, Sahin S, Demirci NS, Karatas F, Bozkaya Y, Aytakin A, Tasdemir V, Aslan AC, Sever AR, Zengin N. Comparative study of receptor discordance between primary and corresponding metastatic lesions in breast cancer. *J BUON*. 2017;22(2):365-376.
11. Aktas B, Kasimir-Bauer S, Müller V, Janni W, Fehm T, Wallwiener D, Pantel K, Tewes M; DETECT Study Group. Comparison of the HER2, estrogen and progesterone receptor expression profile of primary tumor, metastases and circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2016;16(1):1-8. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2587-4>
12. Nguyen TH, Nguyen VH, Nguyen TL, Qiuyin C, Phung TH. Evaluations of biomarker status changes between primary and recurrent tumor tissue samples in breast cancer patients. *Biomed Res Int*. 2019;7391237. <https://doi.org/10.1155/2019/7391237>
13. Ibrahim T, Farolfi A, Scarpi E, Mercatali L. Hormonal receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki67 discordance between primary breast cancer and paired metastases: clinical impact. *Oncology*. 2013;84(3):150-157. <https://doi.org/10.1159/000345795>
14. D'Andrea MR, Limiti MR, Bari M, Zambenedetti P, Montagutti A, Ricci F, Pappagallo GL, Sartori D, Vinante O, Mingazzini PL. Correlation between genetic and biological aspects in primary non-metastatic breast cancers and corresponding synchronous axillary lymph node metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;101(3):279-284. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9300-2>
15. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*. 1998;11(2):155-168.
16. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(2):241-256. <https://doi.org/10.5858/arpa.2013-0953-SA>
17. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Пожарисский К.М., ред. *Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей*. М.: Практическая медицина; 2014. Frank GA, Zavalishina LE, Pozharisskii KM, eds. *Rak molochnoi zhelezy. Prakticheskoe rukovodstvo dlya vrachei*. М.: Prakticheskaya meditsina; 2014. (In Russ.).
18. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, Senn HJ; Panel Members. Tailoring therapies — improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1533-1546. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdv221>
19. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159. <https://doi.org/10.2307/2529310>
20. O'Lone R, Frith MC, Karlsson EK, Hansen U. Genomic targets of nuclear estrogen receptors. *Mol Endocrinol*. 2004;18(8):1859-1875. <https://doi.org/10.1210/me.2003-0044>
21. Williams C, Lin CY. Oestrogen receptors in breast cancer: basic mechanisms and clinical implications. *Ecancermedicalscience*. 2013;7:370. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2013.370>
22. Сазонов С.В., Конышев К.В., Казанцева Н.В., Токарева М.В., Бриллиант Ю.М. Гистологические иммуногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройном негативном раке молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2016;2:53-63. Sazonov SV, Konyshev KV, Kazantseva NV, Tokareva MV, Brilliant YaN. Histological and immunohistochemical manifestations epithelium-mesenchymal transition in the case of triple negative breast cancer. *Journal of Ural Medical Academic Science/Vestnik Ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki*. 2016;(2):53-63. (In Russ.). <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2016-14-2-53-63>
23. Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгерини и ассоциированные с ними молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2017;79(1):12-18. Brilliant YuM, Brilliant AA, Sazonov SV. Epithelial cadherins and associated molecules in invasive lobular breast cancer. *Archive of Pathology/Arkhiv patologii*. 2017;79(1):12-18. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/201779112-18>
24. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М. Связь состояния пролиферативных процессов и особенностей рецепторного аппарата опухолевых клеток карциномы молочной железы. *Гены и клетки*. 2017;12(4):76-81. Sazonov SV, Brilliant AA, Brilliant YuM. Proliferative processes and features of tumor cell receptor apparatus of the breast carcinoma. *Genes and cells/Geny i kletki*. 2017;12(4):76-81. (In Russ.). <https://doi.org/10.23868/201707033>
25. Powe DG, Akhtar G, Habashy HO, Abdel-Fatah T, Rakha EA, Green AR, Ellis IO. Investigating AP-2 and YY1 protein expression as a cause of high HER2 gene transcription in breast cancers with discordant HER2 gene amplification. *Breast Cancer Res*. 2009;11(6):R90. <https://doi.org/10.1186/bcr2461>
26. Moi LL, Flägeng MH, Gjerde J, Madsen A, Røst TH, Gudbrandsen OA, Lien EA, Mellgren G. Steroid receptor coactivators, HER-2 and HER-3 expression is stimulated by tamoxifen treatment in DMBA-induced breast cancer. *BMC Cancer*. 2012;12(1):247. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-247>

Поступила 20.12.2019

Received 20.12.2019

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Вариабельность размеров клеток мелкоклеточного рака легкого по данным различных методов морфологического исследования «малых образцов»

© Н.Е. КОСТЕРИНА<sup>1,2</sup>, Л.М. ГРИНБЕРГ<sup>1,2</sup>, Г.С. СЕНЬКИН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ СО «Противотуберкулезный диспансер», Екатеринбург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** — определение размера клеток мелкоклеточного рака легкого (МРЛ) по материалам «малых образцов» и сравнительный анализ морфометрических показателей при морфологическом исследовании гистологического и цитологического материала, включая методы жидкостной цитологии и цитоблока.

**Материал и методы.** Проведено морфометрическое исследование с оценкой размера клеток МРЛ по материалам «малых образцов» 131 пациента Легочно-хирургического центра и выполнен сравнительный анализ морфометрических данных при гистологическом и различных методах цитологического исследования образцов (мазки-отпечатки, жидкостная цитология и цитоблок).

**Результаты.** Определены статистически достоверные различия размера клеток опухоли в сравниваемых вариантах материала «малых образцов». При этом минимальный размер опухолевых клеток выявлен в жидкостных микропрепаратах (22,26 мкм), а максимальный — в цитологических мазках-отпечатках (124,37 мкм). Размер клеток опухоли в материале цитоблока (36,34 мкм) сопоставим с размером клеток в гистологических образцах (31,48 мкм).

**Выводы.** Вариабельность размера клеток МРЛ в различных вариантах «малых образцов» свидетельствует о высокой пластичности клеток опухоли и зависит от метода получения материала, особенностей его фиксации и методики морфологического исследования. Выявленные достоверные различия в размере клеток МРЛ в материале «малых образцов» следует учитывать при проведении морфологической диагностики с целью ее объективизации и усовершенствования.

**Ключевые слова:** мелкоклеточный рак легкого, «малые образцы», морфометрия размера клеток.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Костерина Н.Е. — <https://orcid.org/0000-0003-3662-3667>

Гринберг Л.М. — <https://orcid.org/0000-0002-5479-3216>

Сенькин Г.С. — <https://orcid.org/0000-0001-8264-4608>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Костерина Н.Е., Гринберг Л.М., Сенькин Г.С. Вариабельность размеров клеток мелкоклеточного рака легкого по данным различных методов морфологического исследования «малых образцов». *Архив патологии*. 2020;82(4):27–31. <https://doi.org/10.17116/patol20208204127>

## Cell size variability of small cell lung cancer according to various methods of morphological studies of «small samples»

© N.E. KOSTERINA<sup>1,2</sup>, L.M. GRINBERG<sup>1,2</sup>, G.S. SENKIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia;

<sup>2</sup>Tuberculosis Dispensary, Yekaterinburg, Russia

### ABSTRACT

**Objective.** Determination of the size of small cell lung cancer (SCLC) cells using the materials of «small samples» and comparative analysis of morphometric parameters in morphological studies of histological and cytological material, including methods of liquid cytology and cytoblock.

**Material and methods.** A morphometric study was carried out with an assessment of the size of SCLC cells according to the materials of «small samples» of 131 patients of the Pulmonary Surgery Center and a comparative analysis of morphometric data was performed with histological and various methods of cytological examination of samples (touch smears, liquid cytology and cytoblock).

**Results.** Statistically significant differences in the size of tumor cells in the compared versions of material of «small samples» were determined. In this case, the minimum size of tumor cells was detected in liquid micropreparations (22.26 microns), and the maximum — in cytological touch smears (124.37 microns). The size of tumor cells in the material of cytoblock (36.34 μm) is comparable to the size of cells in histological samples (31.48 μm).

**Conclusions.** Thus, the cell size variability of SCLC cells in various versions of «small samples» indicates a high plasticity of the tumor cells and depends on the method of obtaining the material, the peculiarities of its fixation and the morphological study

technique. The revealed significant differences in the size of SCLC cells in the material of «small samples» should be taken into account when conducting morphological diagnostics with the aim of objectification and improvement.

**Keywords:** *small cell lung cancer, «small samples», cell size morphometry.*

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Kosterina N.E. — <https://orcid.org/0000-0003-3662-3667>

Grinberg L.M. — <https://orcid.org/0000-0002-5479-3216>

Senkin G.S. — <https://orcid.org/0000-0001-8264-4608>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Kosterina NE, Grinberg LM, Senkin GS. Cell size variability of small cell lung cancer according to various methods of morphological studies of «small samples». *Archive of Pathology = Arhiv patologii*. 2020;82(4):27–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204127>

Рак легкого (РЛ) — наиболее часто встречающаяся злокачественная опухоль и самая распространенная причина смерти онкологических больных [1]. Наиболее агрессивным в клиническом отношении является мелкоклеточный РЛ (МРЛ). Для него доказана абсолютная связь с курением, характерны частое развитие паранеопластических синдромов, отсутствие фазы роста *in situ*, быстрое прогрессирование, тенденция к раннему метастазированию и высокая чувствительность к химиотерапии [1–4]. В гистологической классификации опухолей легких ВОЗ 5-го пересмотра (2015 г.) впервые МРЛ, нейроэндокринный крупноклеточный рак, типичный и атипичный карциноиды и диффузная идиопатическая легочная нейроэндокринно-клеточная гиперплазия объединены в общую группу нейроэндокринных опухолей легких [2]. При этом МРЛ относится к низкодифференцированным нейроэндокринным опухолям высокой степени злокачественности (G3) и его следует рассматривать как мелкоклеточный вариант нейроэндокринной карциномы [2, 3].

Достоверная диагностика морфологического варианта РЛ на дооперационном этапе по материалам «малых образцов» крайне важна, так как определяет дальнейшую тактику лечения, которая существенно отличается в зависимости от гистологического типа РЛ. Методом выбора при лечении МРЛ является химиотерапия, при других морфологических вариантах РЛ прибегают к хирургическому лечению зачастую в сочетании с лучевой и химиотерапией [4].

Дооперационная морфологическая диагностика РЛ в большинстве случаев основывается на исследовании так называемых «малых образцов» (термин впервые предложен в гистологической классификации опухолей легких ВОЗ 2015 г.), к которым относится «малый биопсийный» (бронхиобипаты) и цитологический материал, получаемый преимущественно при бронхоскопии, а также трансторакальной и трансбронхиальной игловой биопсии [2]. В последнее время все большая роль в диагностике РЛ отводится исследованию цитологического материала с использованием традиционных цитологических методов, а также методов жидкостной цитологии (ЖЦ) и клеточного блока — цитоблока (ЦБ) [5–7]. Следует подчеркнуть, что метод ЦБ имеет ряд существенных преимуществ, при этом в отечественной литературе имеются лишь единичные публикации, посвященные этому перспективному способу цитологического исследования [5, 8, 9].

В соответствии с данными литературы при гистологическом исследовании для МРЛ наиболее характерен диффузный тип роста в виде широких полей и пучков, часто ориентированных в одном направлении, реже определяются типичные для нейроэндокринных опухолей гнезда,

трабекулы, розетки и палисадовидные структуры, расположенные по периферии. Клетки опухоли мелкие, обычно меньше или равны трем размерам малого лимфоцита (в среднем 10–15 мкм) и имеют округлые, овальные или вытянутые ядра и скудную цитоплазму, границы клеток обычно плохо различимы. Ядерный хроматин нежно-зернистый, а ядрышки отсутствуют или видны нечетливо. Для опухоли характерны обилие некрозов, нередко весьма обширных, высокая митотическая активность (в среднем 60–80 митозов на 2 мм<sup>2</sup>) и краш-феномен, который проявляется в ткани опухоли наличием скоплений разрушенных опухолевых клеток и тяжелой базофильной ядерной субстанции [1–3].

В отличие от гистологической картины в цитологических мазках клетки опухоли обычно расположены цепочками или тяжами, могут образовывать компактные трехмерные комплексы («виноградная гроздь», «монетный столбик» и др.), реже — розетко- и палисадоподобные структуры. Определяется много изолированных клеток, «голых» ядер и тяжелой ядерной субстанции, что является проявлением краш-феномена. По данным литературы, клетки МРЛ в цитологических образцах имеют мелкий или средний размер (в зависимости от вида цитологического материала), в среднем в 1,5 раза больше такового малого лимфоцита и равны по размеру ядер клеток бронхиального эпителия [2, 5–7].

Несмотря на наличие большого количества исследований, посвященных изучению морфологических особенностей МРЛ [1–3, 5–9], в литературе практически отсутствуют данные о морфометрии клеток МРЛ по материалам «малых образцов», полученных различными методами.

**Цель исследования** — проведение морфометрии размера клеток МРЛ по материалам «малых образцов» и сравнительный анализ морфометрических показателей при морфологическом исследовании гистологического и цитологического материала, включая методы ЖЦ и ЦБ.

## Материал и методы

В исследование включены «малые образцы» 131 пациента консультативно-диагностической поликлиники Легочно-хирургического центра ГБУЗ СО ПТД с клиническим диагнозом МРЛ, проходивших лечение в период с 2009 по 2016 г. Из них 122 (93%) мужчины в возрасте от 32 до 87 лет и 9 (7%) женщин в возрасте от 51 до 71 года. Указанным пациентам в амбулаторно-поликлинических условиях в соответствии со стандартными диагностическими протоколами была выполнена бронхоскопия и трансбронхиальная биопсия стенки пораженного бронха с забором

материала для гистологического и цитологического метода исследования.

Для отбора пациентов использовали морфологические критерии МРЛ согласно гистологической классификации опухолей легких ВОЗ 2015 г., определяемые на светооптическом уровне в гистологических препаратах с окраской гематоксилином и эозином бронхобиоптатов указанных больных [2].

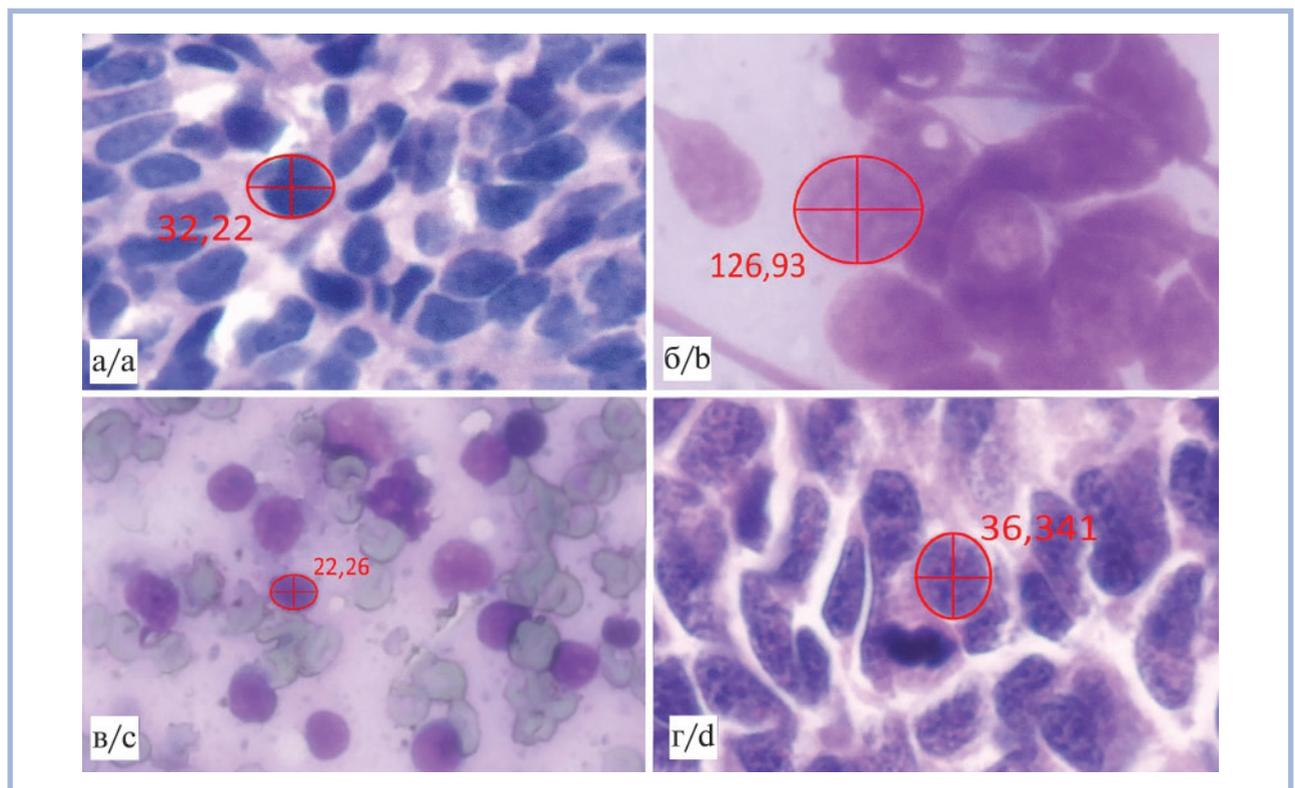
«Малые образцы» всех пациентов разделили на две группы в зависимости от характера и способа получения материала. В 103 случаях (1-я группа) выполнили только щипцовую биопсию стенки пораженного бронха. Полученные бронхобиоптаты одних и тех же больных параллельно исследовали при помощи традиционного гистологического и цитологического метода исследования. При гистологическом исследовании кусочки фиксировали в 10% забуференном формалине, заливали в парафин и микротомировали. Параллельно для цитологического исследования изготавливали мазки-отпечатки бронхобиоптатов на предметных стеклах с дальнейшей фиксацией цитопрепаратов в 96% этиловом спирте и окраской азур-эозином по Романовскому.

В 28 случаях (2-я группа) во время бронхоскопии, помимо щипцовой биопсии стенки бронха, выполняли трансбронхиальную аспирацию содержимого пораженного бронха при помощи катетера и электроотсоса. Таким образом, морфологическому исследованию подлежали не только бронхобиоптаты и их отпечатки на предметном стекле,

но и другой вид цитологического материала — аспираты из бронхов. Аспирированное содержимое бронхов помещали в транспортную среду (Thermo Scientific Shandon Cytospin Collection Fluid) для получения клеточной суспензии, которую в дальнейшем исследовали методом ЖЦ и ЦБ с использованием цитоцентрифуги Cytospin 4 и системы Cytoblock (Cell Block Preparation System) фирмы Shandon. Готовые жидкостные микропрепараты фиксировали в 96% этиловом спирте и окрашивали азур-эозином по Романовскому, клеточные блоки подвергали стандартному гистологическому исследованию аналогично бронхобиоптатам по вышеописанной методике [5].

Для морфометрического исследования и оценки размеров клеток МРЛ в гистологических и цитологических препаратах использовали микроскоп Olympus CX41 с цифровой камерой DP27 (Olympus Corporation, Япония) и пакет программного обеспечения Phmias by Phenix с функцией морфометрии (Phenix Jiangxi Optical, Китай).

Морфометрическое исследование проводили параллельно на гистологическом и цитологическом материале бронхобиоптатов одних и тех же пациентов. Выполняли измерение площади профильного поля 50 максимально сохранивших свою структуру опухолевых клеток в каждом образце при 400-кратном увеличении. В 103 случаях измерение площади профильного поля клеток МРЛ выполняли параллельно на двух видах «малых образцов» (бронхобиоптатах и их мазках-отпечатках), в 28 случаях — параллельно на четырех видах «малых образцов» (бронхобиоптатах и



#### Морфометрия клеток МРЛ по материалам «малых образцов» в программе Phmias by Phenix.

а — гистологический препарат, окраска гематоксилином и эозином; б — мазок-отпечаток, окраска азур-эозином; в — жидкостной препарат, окраска азур-эозином; г — цитоблок, окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ .

#### Morphometry of cells of SCLC according to the material on «small specimens» in the Phmias by Phenix program.

а — histological preparation, H&E; б — touch smear, azure-eosin staining; в — liquid preparation, azure-eosin staining; г — cytoblock, H&E,  $\times 400$ .

их мазках-отпечатках), а также на жидкостных микропрепаратах и материале ЦБ, полученных из аспирированного содержимого бронхов.

В интерфейсе программы Phmiasby Phenix первоначально получали фотоизображение опухолевой ткани, затем выбирали наиболее сохранившие свою структуру участки и проводили ручное выделение контуров измеряемого объекта, программа автоматически вычисляла площадь профильного поля опухолевых клеток (рисунок). Эти данные экспортировали в программу Microsoft Excel и группировали в четыре раздела (гистологическое исследование, цитологические мазки-отпечатки, жидкостная цитология, цитоблок) для дальнейшей статистической обработки.

Статистическую оценку клинической информативности различных методов морфологической диагностики МРЛ по материалам «малых образцов» проводили с помощью программы Statistica 8.0. Нормальность выборки определяли методом Колмогорова—Смирнова. В 1-й группе «малых образцов» ввиду соответствия выборки нормальному распределению использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента для связанных совокупностей. Во 2-й группе вследствие несоответствия выборки нормальному распределению применяли непараметрический критерий Краскела—Уоллиса. В обеих группах различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

По данным морфометрического исследования «малых образцов» выявлено, что площадь профильного поля клеток МРЛ существенно варьирует в зависимости от вида морфологического материала и способа его получения (таблица). При гистологическом исследовании бронхобиоптатов площадь профильного поля опухолевых клеток в 1-й группе колеблется от 7,72 до 97,11 мкм (среднее значение 31,48 мкм), во 2-й группе показатели площади профильного поля клеток схожи: 9,44—97,11 мкм (среднее значение 32,22 мкм). В цитологических мазках-отпечатках биоптатов бронхов площадь профильного поля клеток существенно возрастает и составляет 27,07—406,65 мкм в обеих группах (среднее значение 124,37 и 126,93 мкм соответственно). В жидкостных микропрепаратах, изготовленных из аспирированного содержимого бронхов, площадь профильного поля клеток МРЛ существенно меньше и составляет 11,53—52,14 мкм (среднее значение 22,27 мкм). В препаратах ЦБ размер клеток опухоли приближен к гистологическим образцам и варьирует от 16,29 до 82,47 мкм (среднее значение 36,341 мкм).

Площадь профильного поля опухолевых клеток в цитологических мазках-отпечатках бронхобиоптатов оказалась практически в 4 раза больше, чем в гистологических препаратах, в 3 раза больше, чем в материале ЦБ, и в 6 раз больше, чем в жидкостных образцах. Площадь профильного поля клеток МРЛ в гистологических препаратах и материале ЦБ отличается незначительно. Соотношение площадей профильного поля опухолевых клеток при МРЛ в зависимости от вида морфологического материала по убывающей можно отобразить следующим образом: 6 (мазки-отпечатки) : 2 (ЦБ) : 1,5 (гистологические препараты) : 1 (ЖЦ).

Статистический анализ полученных данных морфометрии выявил значимые различия площадей профильного поля клеток МРЛ в 1-й группе ( $Me_{цит} = 124,37$ ,  $Me_{гист} = 31,48$ ,  $Diff = 92,88$ ,  $t = 155,92$ ,  $df = 5124$ ,  $p = 0,0000$ ) и во 2-й группе ( $N(3, N = 5600) = 4052,138$ ,  $p = 0,000$ ).

Выявленная вариабельность размеров опухолевых клеток при исследовании гистологического и цитологического материала «малых образцов», по нашему мнению, может быть обусловлена особенностями морфологического строения МРЛ, а именно повышенной «хрупкостью» опухолевой ткани при механическом воздействии в силу низкой степени дифференцировки опухоли, а также может зависеть от способа получения материала для морфологического исследования и методики изготовления микропрепаратов. Традиционный цитологический метод исследования заключается в «ручном» изготовлении микропрепаратов из «нефиксированной» опухолевой ткани, полученной путем щипцовой биопсии при бронхоскопии, в итоге клетки опухоли подвергаются двойной травматизации. Первоначально ткань опухоли раздавливается кусачками бронхоскопа при биопсии, а затем подвергается артефициальным изменениям в виде механического распластывания на стекле с укрупнением размера клеток при изготовлении мазков-отпечатков. В отличие от традиционной цитологии жидкостная методика подразумевает изготовление микропрепаратов из предварительно фиксированного в транспортной среде материала при помощи центрифуги, что позволяет сохранить мелкие размеры и форму клеток опухоли. Однако клетки опухоли теряют свои межклеточные связи в процессе центрифугирования и распределения на стекле в виде монослоя, что создает трудности в проведении дифференциальной диагностики МРЛ с другими мелкоклеточными опухолями. Незначительные отличия размера клеток МРЛ в гистологических препаратах и материале ЦБ обусловлены, наиболее вероятно, самой методикой изготовления клеточных блоков,

### Площадь профильного поля клеток МРЛ по материалам «малых образцов»

Показатель	Площадь, мкм			
	Min	Max	Среднее значение	Доверительный интервал
1-я группа (n=103):				
Гистология	7,72	97,11	31,48	31,48±11,20
Цитология (мазки-отпечатки)	27,07	406,65	124,37	124,37±41,57
2-я группа (n=28):				
Гистология	9,44	97,11	32,22	32,22±11,06
Цитология (мазки-отпечатки)	27,07	406,65	126,93	126,93±40,95
Жидкостная цитология	11,53	52,14	22,26	22,26±4,76
Цитоблок	16,29	82,47	36,34	36,34±9,42

закрывающейся в комбинации цитологической техники центрифугирования «фиксированной» клеточной взвеси и заключения материала в свертке фибрина или гелевой матрице, которые в дальнейшем подвергаются всем технологическим этапам исследования гистологического материала аналогично бронхобиоптатам.

Таким образом, полученные в ходе проведенного исследования результаты свидетельствуют о существенной вариативности размера клеток МРЛ на материале «малых образцов».

## Выводы

1. Впервые проведено сравнительное морфометрическое исследование площади профильного поля клеток МРЛ по материалам «малых образцов», полученных при традиционном гистологическом исследовании бронхобиоптатов опухоли, цитологическом исследовании мазков-отпечатков, а также с использованием методов ЖЦ и ЦБ бронхиальных аспиратов.

2. Исследование позволило продемонстрировать статистически достоверные различия размера клеток опухоли в сравниваемых вариантах материала «малых образцов». При этом минимальный размер опухолевых клеток выявлен в жидкостных микропрепаратах (22,26 мкм), а максимальный — в цитологических мазках-отпечатках (124,37 мкм). Размер клеток опухоли в материале ЦБ (36,34 мкм) сопоставим с размером клеток в гистологических образцах (31,48 мкм).

3. Вариативность размера клеток МРЛ в различных вариантах «малых образцов» свидетельствует о высокой пластичности клеток опухоли и зависит от метода получения материала, особенностей его фиксации и методики морфологического исследования. При этом следует подчеркнуть, что наиболее близким к традиционному гистологическому методу исследования является метод ЦБ, при котором цитологический клеточный материал концентрируется и подвергается микротомированию по аналогии с тканевым материалом биоптата.

4. Выявленные достоверные различия размера клеток опухоли при МРЛ в материале «малых образцов», полученных разными способами, следует учитывать при проведении морфологической диагностики, что будет способствовать ее объективизации и совершенствованию.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Н.Е. Костерина, Л.М. Гринберг

Сбор и обработка материала: Н.Е. Костерина, Г.С. Сенькин

Статистическая обработка данных: Г.С. Сенькин

Написание текста: Н.Е. Костерина

Редактирование: Л.М. Гринберг

## Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Dail DH, Hammar SP, eds. *Pulmonary pathology*. New York: Springer-Verlag; 2007.
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, eds. *World Health Organization Classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart*. Lyon: IARC Press; 2015.
- Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol*. 2010;25:18-30. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.150>
- Бычков М.Б. Мелкоклеточный рак легкого: состояние проблемы к 2013 году и изменения за последние 40 лет. *Злокачественные опухоли*. 2013;1:28-34. Vychkov MB. Small cell lung cancer: status of the problem in 2013 and changes in the last 40 years. *Malignant Tumors/Zlokachestvennye opukholi*. 2013;(1):28-34. (In Russ.). <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2013-1-28-34>
- Костерина Н.Е., Гринберг Л.М., Николаева А.М. Методы жидкостной цитологии и цитоблок в морфологической диагностике опухолей легких. *Уральский медицинский журнал*. 2016;3:45-49. Kosterina NE, Grinberg LM, Nikolaeva AM. Methods of liquid based cytology and cell block in morphological diagnostics of lung tumors. *Ural Medical Journal/ Ural'skii meditsinskii zhurnal*. 2016;(3):45-49. (In Russ.).
- Cibas ES, Ducatman BS. *Cytology: diagnostic principles and clinical correlates*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009.
- Bibbo M, Wilbur D, eds. *Comprehensive cytopathology*. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2008.
- Волченко Н.Н., Борисова О.В., Баранова И.Б. Технология «Клеточный блок» в цитологической практике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015;60(8):37-39. Volchenko NN, Borisova OV, Baranova IB. The technology «cell block» in cytological practice. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics/Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015;60(8):37-39. (In Russ.).
- Ерохина О.А., Ключкина Л.Б., Толкач Е.В., Урбанович М.Н., Макейчик Е.Е., Кохановская О.О., Гапанович Е.А. Цитологическое исследование выпотных жидкостей с использованием метода клеточных блоков. *Медицинские новости*. 2012;9:26-28. Erokhina OA, Kliukina LB, Tolkach AV, Urbanovich MN, Makeichyk AE, Kokhanovskaya OO, Hapanovich AA. Cytology of serous effusions applying the cell block method. *Medical News/Meditsinskii novosti*. 2012;9:26-28. (In Russ.).

Поступила 13.01.2020

Received 13.01.2020

Принята в печать 19.02.2020

Accepted 19.02.2020

## Патология легких при COVID-19 в Москве

© М.В. САМСОНОВА<sup>1</sup>, Л.М. МИХАЛЕВА<sup>2</sup>, О.В. ЗАЙРАТЬЯНЦ<sup>2,3</sup>, В.В. ВАРЯСИН<sup>4</sup>, А.В. БЫКАНОВА<sup>4</sup>,  
О.Д. МИШНЕВ<sup>5</sup>, Ю.С. БЕРЕЗОВСКИЙ<sup>6</sup>, О.А. ТИШКЕВИЧ<sup>7</sup>, Е.А. ГОМЗИКОВА<sup>1,7</sup>, А.Л. ЧЕРНЯЕВ<sup>1,2,5</sup>,  
Т.Н. ХОВАНСКАЯ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» ФМБА России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ГБУЗ Москвы «Городская клиническая больница №52» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия;

<sup>5</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>6</sup>ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, Россия;

<sup>7</sup>ГБУЗ Москвы «Инфекционная клиническая больница №2» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

За период с 6 марта по 30 апреля 2020 г. в разных стационарах Москвы умерли 543 (219 женщин и 324 мужчины), средний возраст которых составил 67,47±14,67 года. Изучены легкие от 23 умерших с прижизненно подтвержденным диагнозом COVID-19 (ПЦР-исследование на материале из носоглотки, у части умерших положительный анализ ПЦР в материале, полученном из трахеи и ткани легких при аутопсии). Средний возраст этих умерших составил 72,27±10,74 года, длительность заболевания колебалась от 5 до 32 сут. При тяжелом течении COVID-19 у больных возникает вирусная интерстициальная пневмония с развитием диффузного альвеолярного повреждения, которое обуславливает тяжелое течение заболевания, гипоксию и дыхательную недостаточность. Обнаружено неполное соответствие между морфологическими изменениями в легких (фазы диффузного альвеолярного повреждения) и длительностью заболевания, что, вероятно, связано с неустановленной продолжительностью бессимптомного течения у многих пациентов. Течение новой коронавирусной инфекции характеризуется преимущественным повреждением легких, повышением концентрации гемоглобина в крови, снижением SpO<sub>2</sub>, лимфопенией с одновременным нарастанием лейкоцитоза, признаков гиперкоагуляции у крайне тяжелых больных. Возникновение вирусно-бактериальной пневмонии возможно прежде всего у лиц при интубации трахеи с трахеостомой и длительной ИВЛ на любом этапе течения заболевания.

**Ключевые слова:** легкие, диффузное альвеолярное повреждение, вирусная интерстициальная пневмония, коронавирусная инфекция, COVID-19.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Самсонова М.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8170-1260>

Михалева Л.М. — <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Зайратьянц О.В. — <https://orcid.org/0000-0003-3606-3823>

Варясин В.В. — e-mail: pao52@mail.ru

Быканова А.В. — e-mail: rwoman9@mail.ru

Мишнев О.Д. — <https://orcid.org/0000-0002-5466-9147>

Тишкевич О.А. — e-mail: tishol@mail.ru

Березовский Ю.С. — e-mail: report-q@yandex.ru.

Гомзикова Е.А. — e-mail: dikijveresk@gmail.com

Черняев А.Л. — <https://orcid.org/0000-0003-0973-9250>

Хованская Т.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-5646-2605>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Самсонова М.В., Михалева Л.М., Зайратьянц О.В., Варясин В.В., Быканова А.В., Мишнев О.Д., Березовский Ю.С., Тишкевич О.А., Гомзикова Е.А., Черняев А.Л., Хованская Т.Н. Патология легких при COVID-19 в Москве. *Архив патологии*. 2020;82(4):32–40.

<https://doi.org/10.17116/patol20208204132>

## Lung Pathology of COVID-19 in Moscow

© M.V. SAMSONOVA<sup>1</sup>, L.M. MIKHALYOVA<sup>2</sup>, O.V. ZAIRATYANTS<sup>2,3</sup>, V.V. VARYASIN<sup>4</sup>, A.V. BYKANOVA<sup>4</sup>,  
O.D. MISHNEV<sup>5</sup>, YU.S. BEREZOVSKY<sup>6</sup>, O.A. TISHKEVITCH<sup>7</sup>, E.A. GOMZIKOVA<sup>1,7</sup>, A.L. CHERNYAYEV<sup>1,2,5</sup>,  
T.N. KHOVANSKAYA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Pulmonology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Moscow State Medical and Dental University named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>City Clinical Hospital №52, Moscow, Russia;

<sup>5</sup>Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia;

<sup>6</sup>Central Research Institute of Tuberculosis, Moscow, Russia;

<sup>7</sup>Infectious Clinical Hospital №2, Moscow, Russia

**Автор, ответственный за переписку:** Самсонова М.В. —  
e-mail: samary@mail.ru

**Corresponding author:** Samsonova M.V. — e-mail: samary@mail.ru

**ABSTRACT**

We analyzed lung material from 22 dead obtained on autopsy for the period from March, 6 to April, 30, 2020, in various clinics in Moscow. For this period died 532 patients (219 female, 324 male), with mean age  $67.47 \pm 14.67$  years. In all 22 deceased patients, the diagnosis of COVID-19 was confirmed in vivo (PCR study on material from the nasopharynx, in some patients by a positive PCR analysis in material obtained from trachea and lung tissue during autopsy). The average age of these deceased was  $72.27 \pm 10.74$  years, the duration of the disease ranged from 5 to 32 days. In severe COVID-19, patients develop viral interstitial pneumonia with the development of diffuse alveolar damage, which causes a severe course of the disease, hypoxia, and respiratory failure. An incomplete correspondence was found between morphological changes in the lungs (phases of diffuse alveolar damage) and the duration of the disease, which is most likely due to the unspecified duration of the asymptomatic course in many patients. The course of a new coronavirus infection is characterized by primary damage to the lungs, an increase in hemoglobin concentration in the blood, a decrease in  $SpO_2$ , lymphopenia with a simultaneous increase in leukocytosis, and signs of hypercoagulation in extremely severe patients. Virus-bacterial pneumonia may occur mainly in individuals with tracheal intubation, with tracheostomy and prolonged mechanical ventilation on any stage of the disease.

**Keywords:** lungs, diffuse alveolar damage, viral interstitial pneumonia, coronavirus infection, COVID-19.

**INFORMATION ABOUT AUTHORS:**

Samsonova M.V. — <https://orcid.org/0000-0001-8170-1260>  
Mikhaleva L.M. — <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>  
Zayratyants O.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3606-3823>  
Varyasin V.V. — e-mail: pao52@mail.ru  
Bykanova A.V. — e-mail: rwoman9@mail.ru  
Mishnev O.D. — <https://orcid.org/0000-0002-5466-9147>  
Tishkevich O.A. — e-mail: tishol@mail.ru  
Gomzikova E.A. — e-mail: dikijveresk@gmail.com  
Berezovsky Y.S. — e-mail: report-q@yandex.ru  
Cherniaev A.L. — <https://orcid.org/0000-0003-0973-9250>  
Khovanskaya T.N. — <https://orcid.org/0000-0002-5646-2605>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Samsonova MV, Mikhaleva LM, Zairatyants OV, Varyasin VV, Bykanova AV, Mishnev OD, Berezovsky YuS, Tishkevich OA, Gomzikova EA, Chernyaev AL, Khovanskaya TN. Lung pathology of COVID-19 in Moscow. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):32–40. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204132>

Пандемия коронавирусной болезни 2019 г. (COVID-19) быстро распространяется. Причиной развития болезни является новый коронавирус SARS-CoV-2, обладающий высокой инфекционностью в условиях отсутствия эффективных противовирусных препаратов и вакцин.

SARS-CoV-2 — одноцепочечный РНК-содержащий вирус, принадлежащий к семейству Coronaviridae. Согласно секвенированию генома, было показано, что существует генетическое родство нового вируса с ранее известными коронавирусами SARS-CoV (сходство ~79%) и MERS-CoV (сходство ~50%) [1–3]. S-белок вируса SARS-CoV-2 имеет родство к рецептору ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), причем его аффинность в отношении этого рецептора в 10–20 раз выше, чем у SARS-CoV, что и обеспечивает высокую контагиозность. Рецептор к АПФ2 экспрессируется в эндотелии сосудов, эпителии респираторных путей, альвеолоцитах, альвеолярных моноцитах и макрофагах [1–3]. Основным путем передачи является прямое или не прямое воздействие на дыхательные пути. Следует отметить, что SARS-CoV-2 способен к активной репликации в верхних дыхательных путях [1, 4], что продемонстрировала успешная изоляция живого вируса из мазков из зева и обнаружение вирусного субгеномного РНК-мессенджера (sgRNA) в клетках верхних дыхательных путей. Тропность вируса к эпителию верхних дыхательных путей, вероятно, объясняет непрерывное выделение вируса из глотки и более эффективную передачу SARS-CoV-2, чем SARS-CoV. Течение и прогрессирование болезни COVID-19 напоминает SARS по репликации вируса в нижних дыхательных путях с развитием вторичной вирусемии, приводящей к поражению органов-мишеней: легких,

сердца, почек, желудочно-кишечного тракта и периферической сосудистой сети, которые экспрессируют рецептор к АПФ2, приводя к клиническому ухудшению на второй неделе после начала заболевания [4].

Персистирующий воспалительный статус у пациентов с тяжелой и критической степенью тяжести COVID-19 действует как важный триггер для каскада коагуляции. В частности, IL-6 может активировать систему свертывания и подавлять фибринолитическую систему. Вследствие прямого воздействия вируса происходит повреждение эндотелия сосудов легких и периферических сосудов, что также является важным индуктором гиперкоагуляции как и агрессивный иммунный ответ. Появление антифосфолипидных антител может усиливать коагулопатию [5].

Такое явление у пациентов с тяжелым и критическим состоянием редко встречалось при других коронавирусных инфекциях, но обнаруживалось при тяжелом гриппе [6]. Клиническое течение COVID-19 характеризуется гиперкоагуляцией с увеличением протромбинового времени, повышением уровня D-димера и фибриногена при почти нормальном активированном частичном тромбопластиновом времени, что приводит к развитию диссеминированной внутрисосудистой коагуляции (ДВС-синдрома), которая наблюдалась у 71,4% умерших и 0,6% оставшихся в живых больных с COVID-19 [7, 8]. Прогрессирование COVID-19 также связывают с постоянным снижением уровня лимфоцитов и значительным повышением доли нейтрофилов [9]. Помимо этого, происходит повышение концентрации маркеров воспаления: С-реактивного белка, ферритина, интерлейкина (IL) 6, IP-10, MCP1, MIP1A и TNF $\alpha$ . Показано, что снижение количества лимфоцитов,

повышение уровня ферритина, IL-6 и D-димера являются прогностическими факторами смертности при COVID-19 [9, 10]. Однако механизмы, лежащие в основе прогрессирующей лимфопении у тяжелых и критических пациентов с COVID-19, остаются неясными. Предполагают, что это может быть связано с функциональным истощением лимфоцитов и/или гибелью части лимфоцитов посредством апоптоза или пироптоза [11, 12].

Клиническое течение инфекции SARS-CoV-2 можно разделить на три следующие фазы: вирусемия, обострение (фаза пневмонии) и прогрессирование или выздоровление [13]. Пациенты с сохраненным иммунным статусом и адекватным иммунным ответом без факторов риска (пожилой или старческий возраст, наличие коморбидных заболеваний) подавляют действие вируса на первом или втором этапе без формирования чрезмерной иммунной реакции. Напротив, пациенты с иммунной дисфункцией имеют высокий риск сбоя начальной фазы иммунного ответа, что является причиной тяжелого или крайне тяжелого течения болезни и высокого риска смерти. Исходя из этого, лечение COVID-19 должно быть более адекватным в этом окне возможностей между первой и второй фазой, когда наблюдается клиническое ухудшение с признаками резкого воспаления и гиперкоагуляционного синдрома.

Инкубационный период при COVID-19 составляет от 2 до 14 сут, в среднем 5–7 сут. Для сравнения: инкубационный период для сезонного гриппа составляет около двух дней.

Среди первых симптомов COVID-19 зарегистрированы: повышение температуры тела — в 90% наблюдений, кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты) — 80%, одышка — 55%, миалгия и утомляемость — 44%, ощущение сдавленности (заложенности) и/или боли в грудной клетке — 20%, продукция мокроты — 8%, а также головные боли — 8%, кровохарканье — 5%, диарея — 3%, тошнота, насморк, утрата обоняния и вкусовых ощущений, разнообразные кожные высыпания. Такие симптомы в дебюте инфекции могут наблюдаться и при отсутствии повышения температуры тела. Кроме того, указывают на то, что до 70% пациентов имеют бессимптомное течение заболевания, при этом при проведении КТ легких примерно у 50% таких больных выявляются признаки пневмонии [14].

Летальность при COVID-19 в Южной Корее на 15.03.20 составила 3,7% (из 156 400 заболевших умерли 5833) [15]. По данным N. Petrosillo и соавт. (2020), летальность при COVID-19 составила 2,3%, при SARS — 9,5%, при MERS — 34,4% [16].

При аутопсии умерших от COVID-19 описаны макроскопические изменения легких. Авторы указывают на уплотнение одного или обоих легких (увеличение массы), отек, серо-розовый цвет слизистой оболочки трахеи и крупных бронхов, иногда встречается небольшое количество жидкого буроватого секрета, описывают перикардит, сегментарный стеноз и расширение тонкой кишки [17].

При гистологическом исследовании материала, полученного при обычной или минимальной инвазивной аутопсии, наблюдали десквамацию бронхиального и бронхиолярного эпителия, внутриальвеолярный отек, гиалиновые мембраны в части альвеол, в просветах альвеол были видны скопления макрофагов и моноцитов, гигантские многоядерные уродливые клетки альвеолярного эпителия. Выявлены инфильтрация стенок альвеол лимфоцитами (преимущественно CD4+ Т-лимфоцитами), пролиферация альвеолоцитов II типа и десквамация аль-

веолярного эпителия (альвеолоцитов I и II типа), расширение капилляров межальвеолярных перегородок с лимфоидно-моноцитарной инфильтрацией стенок. Наличие фибриновых (гиалиновых) обтурирующих тромбов в просветах капилляров артериол и венул сочеталось с очаговыми внутриальвеолярными кровоизлияниями. Были отмечены также участки организующейся пневмонии и интерстициального фиброза. Вирусные частицы обнаружены в эпителии бронхов и цитоплазме альвеолоцитов II типа. В почках выявлены участки фибринозного некроза капилляров клубочков, периваскулярные лимфоидные инфильтраты; в селезенке — некроз и дегенерация клеток. Вирусные частицы в других органах не обнаружены [18].

Данные о заболеваемости и смертности, клиническом течении заболевания, рентгенологических особенностях, о макро- и микроскопических изменениях в легких при COVID-19 продолжают накапливаться и обобщаться, однако остается множество нерешенных вопросов и проблем.

**Цель исследования** — изучить морфологические изменения в легких у умерших от COVID-19 в Москве за период с 6 марта по 30 апреля 2020 г.

За указанный период (с 20 марта по 28 апреля 2020 г.) в разных стационарах Москвы умерли от COVID-19 543 пациента (219 женщин и 324 мужчины), средний возраст умерших составил  $67,47 \pm 14,67$  года ( $71,27 \pm 13,64$  и  $64,93 \pm 14,83$  года для женщин и мужчин соответственно).

Изучен материал, полученный от 23 умерших пациентов с прижизненно подтвержденным COVID-19 (ПЦР-исследование материала из носоглотки, у части умерших положительный анализ ПЦР в образцах из трахеи и ткани легких при аутопсии). Средний возраст умерших составил 65 лет, длительность заболевания колебалась от 5 до 32 сут. Аутопсия была проведена в соответствии с рекомендациями Департамента здравоохранения г. Москвы [14].

На аутопсии выявлено резко выраженное острое общее венозное полнокровие, наибольшие изменения наблюдали в легких, у части пациентов множественные мелкоочаговые кровоизлияния в париетальной и висцеральной плевре, шоковые почки, тромбы в кровеносных сосудах разной локализации.

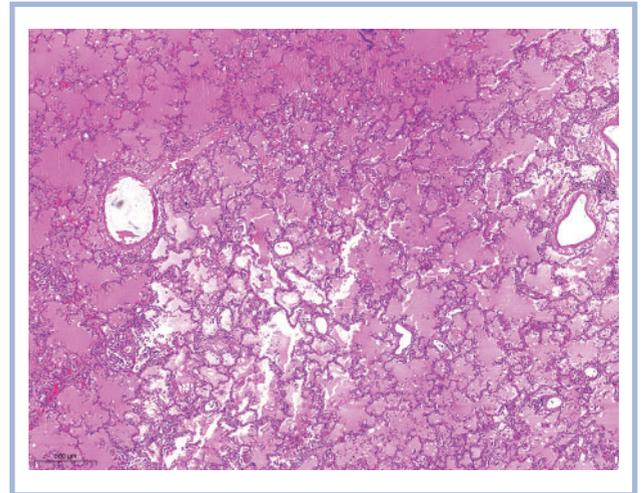
Легкие, как правило, заполняли весь объем грудной полости; наблюдали типичную картину «шоковых легких»: резиновая плотность ткани и ее безвоздушность, лаковый вид темно-вишневой поверхности, на разрезе легкие темно-красного или коричневатого-красного цвета, встречались участки ателектазов (дистелектазов), геморрагические инфаркты различных размеров, обтурирующие тромбы в ветвях легочных артерий и вен, что соответствует диффузному альвеолярному повреждению с элементами ДВС-синдрома (**рис. 1**).

При гистологическом исследовании в легочной ткани изменения соответствовали различным фазам диффузного альвеолярного повреждения. В раннюю экссудативную фазу (у 17 из 23 умерших) выявляли внутриальвеолярный отек (**рис. 2**), гиалиновые мембраны (**рис. 3, 4**), выстилающие контуры альвеол, десквамацию бронхиолярного и альвеолярного эпителия, в последнем — в виде разрозненных клеток и пластов (**рис. 5**). В стенках и просветах альвеол обнаруживали альвеолоциты с измененной формой клеток (крупные, местами отростчатые клетки), с укрупненными ядрами с грубозернистым хроматином и отчетливыми ядрышками, иногда вокруг ядра присутствовало гало, а в цитоплазме клеток были округлые включения



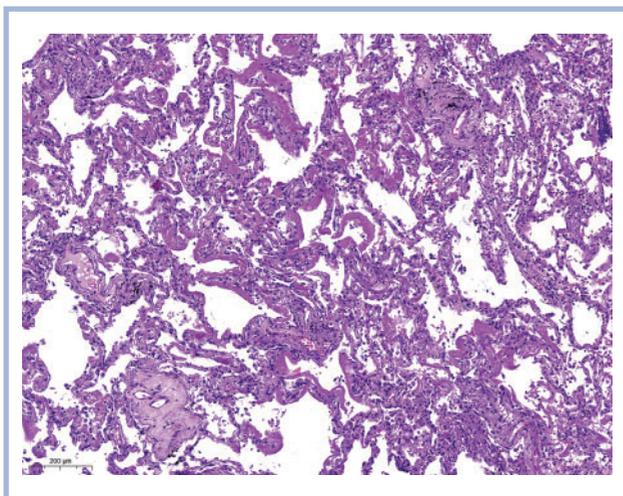
**Рис. 1.** Макропрепарат. Уплотнение ткани легкого, очаговые кровоизлияния (инфаркты в 6-м и 10-м сегментах легкого).

**Fig. 1.** Gross cross section of the lung. Consolidation of the lung, focal hemorrhage (infarction in the 6 and 10 segment of the lung).



**Рис. 2.** Внутриальвеолярный выраженный отек. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 25$ .

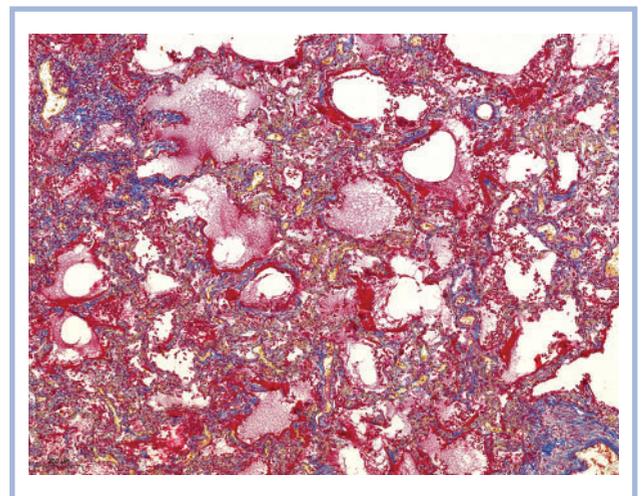
**Fig. 2.** Intraalveolar pronounced edema. H&E,  $\times 25$ .



**Рис. 3.** Гиалиновые мембраны, выстилающие контуры альвеол.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 70$ .

**Fig. 3.** Hyaline membranes lining the contours of the alveoli. H&E,  $\times 70$ .



**Рис. 4.** Многочисленные внутриальвеолярные гиалиновые мембраны (окрашенные красным).

Окраска MSB по Лендруму,  $\times 50$ .

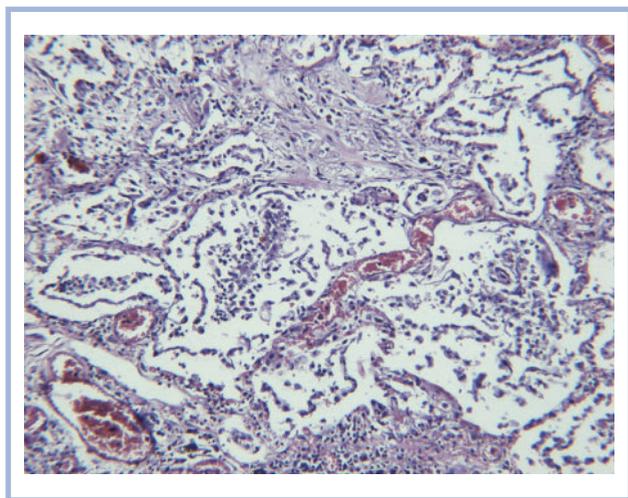
**Fig. 4.** Numerous intraalveolar hyaline membranes (colored in red).

MSB staining by Lendrum,  $\times 50$ .

(рис. 6). Такие изменения следует трактовать как цитопатический эффект, что является косвенным подтверждением вирусного повреждения. Иногда встречались единичные симпласты десквамированных альвеолоцитов. Помимо этого в экссудативную фазу наблюдалось полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок, а также ветвей легочных артерий и вен, в большинстве случаев со сладжами эритроцитов, фибриновыми или организующимися тромбами, очагами периваскулярных кровоизлияний (рис. 7, 8).

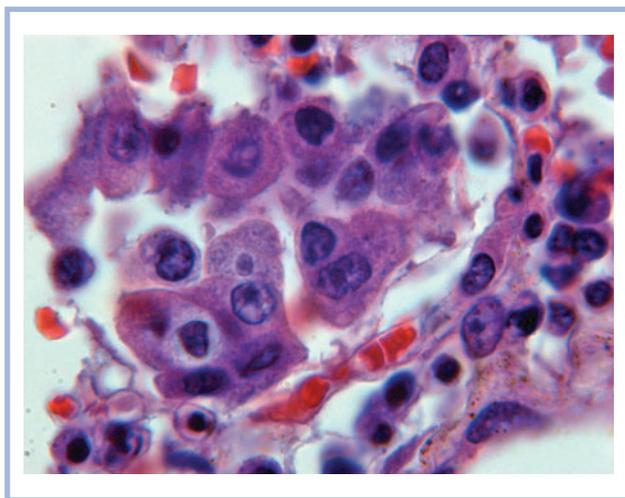
Внутриальвеолярное скопление эритроцитов выявляли практически во всех наблюдениях, однако выраженность его в разных случаях и в различных участках легкого неодинакова — от небольших скоплений до практиче-

ски полного заполнения просвета альвеол эритроцитами с формированием инфаркта. Сидерофаги и/или отложение гемосидерина (периваскулярно и в стенках ветвей легочной артерии) выявлены лишь у трех умерших. В одном наблюдении найдены периваскулярные кровоизлияния. В капиллярах межальвеолярных перегородок во всех случаях обнаружены мегакарициты (рис. 9). В просветах альвеол наблюдали скопление лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов, единичных нейтрофилов, выраженность клеточной реакции была различной. В эту же фазу заболевания в просветах альвеол у части умерших обнаружены макрофаги, содержащие в цитоплазме фрагменты клеток (рис. 10). В части альвеол выявлена пролиферация альвеолоцитов II типа, наряду с этим также наблюдали



**Рис. 5. Десквамация альвеолоцитов I типа.**  
Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

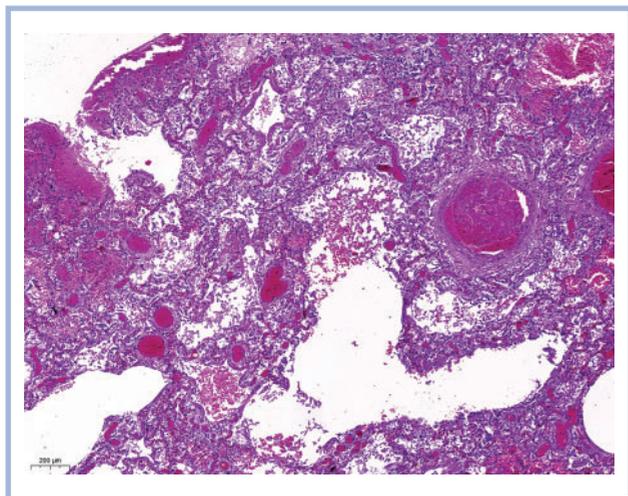
**Fig. 5. Desquamation of type I pneumocytes.**  
H&E,  $\times 100$ .



**Рис. 6. Цитопатический эффект: уродливые альвеолоциты, просветление в виде гало вокруг ядра, внутрицитоплазматическое включение.**

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 1000$ .

**Fig. 6. Cytopathic effect: atypical pneumocytes, perinuclear halo, intracytoplasmic inclusion.**  
H&E,  $\times 1000$ .

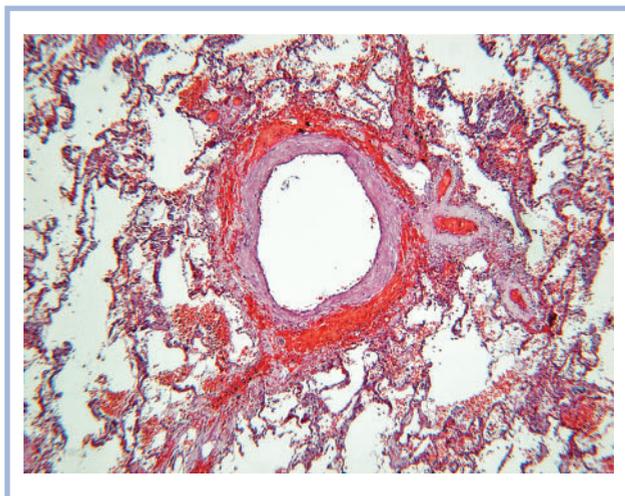


**Рис. 7. Внутриальвеолярные скопления эритроцитов, фибриновый тромб в мелкой ветви легочной вены.**

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 70$ .

**Fig. 7. Intraalveolar accumulation of the red blood cells, fibrinous thrombus in small pulmonary vein.**

H&E,  $\times 70$ .



**Рис. 8. Периваскулярное кровоизлияние.**

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

**Fig. 8. Perivascular hemorrhage.**

H&E,  $\times 100$ .

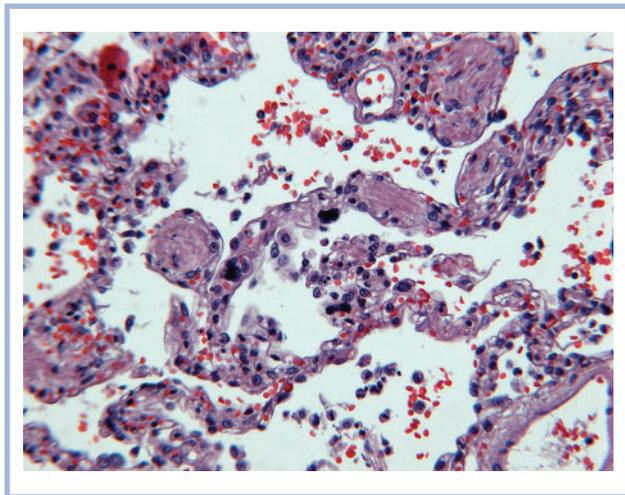
десквамацию их в виде пластов. Имелась инфильтрация межальвеолярных перегородок лимфоцитами (рис. 11).

У 6 умерших в фазу пролиферации диффузного альвеолярного повреждения в просветах альвеол обнаруживали фибрин разной степени зрелости, полиповидную грануляционную ткань в виде мелких фрагментов (рис. 12), поля организующейся пневмонии или участки рыхлого фиброза с щелевидными структурами, выстланными кубическим или метаплазированным плоским эпителием (рис. 13). В то же время у части умерших определяли интерстициальное воспаление с утолщением и отеком межальвеолярных

перегородок в последних и периваскулярно обнаруживали отечную миксоидную строму (рис. 14).

Замечено, что фаза диффузного альвеолярного повреждения не коррелировала с продолжительностью заболевания, указанного в медицинских документах.

В двух наблюдениях наряду с признаками вирусной пневмонии выявлена бактериальная пневмония. В одном случае бактериальная пневмония в фазе организации сочеталась с диффузным альвеолярным повреждением в фазе организации. Вероятнее всего, присоединилась бактериальная суперинфекция, осложнившая течение вирусной пневмонии.

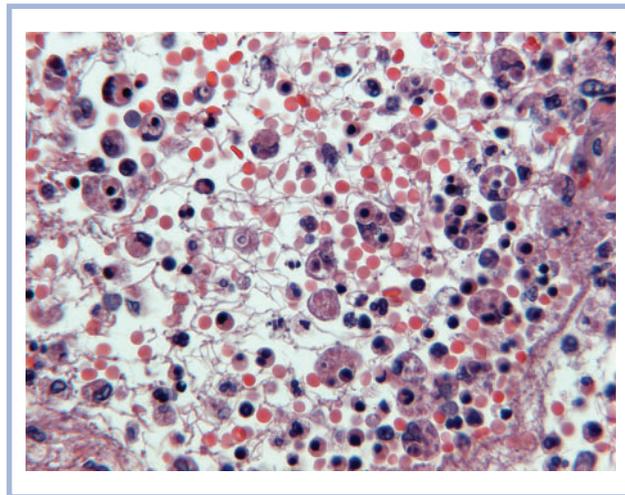


**Рис. 9.** Мегакарициты в капиллярах межальвеолярных перегородок.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ .

**Fig. 9.** Megakaryocytes in the capillaries of intraalveolar septa.

H&E,  $\times 200$ .

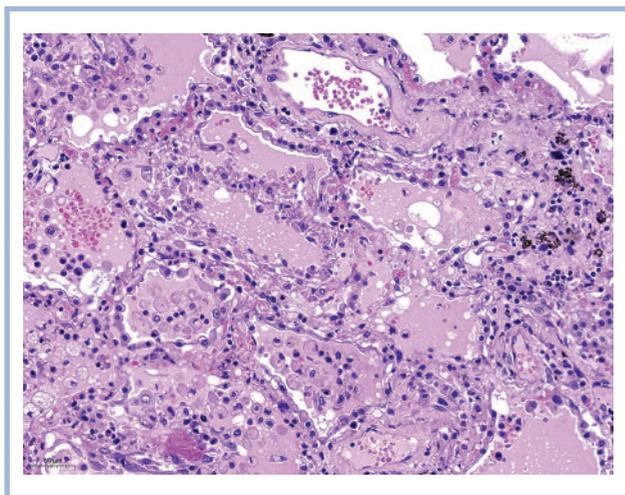


**Рис. 10.** Внутриальвеолярное скопление макрофагов, в цитоплазме макрофагов клеточные фрагменты.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ .

**Fig. 10.** Intraalveolar accumulation of macrophages, cell fragments in the cytoplasm of macrophages.

H&E,  $\times 200$ .

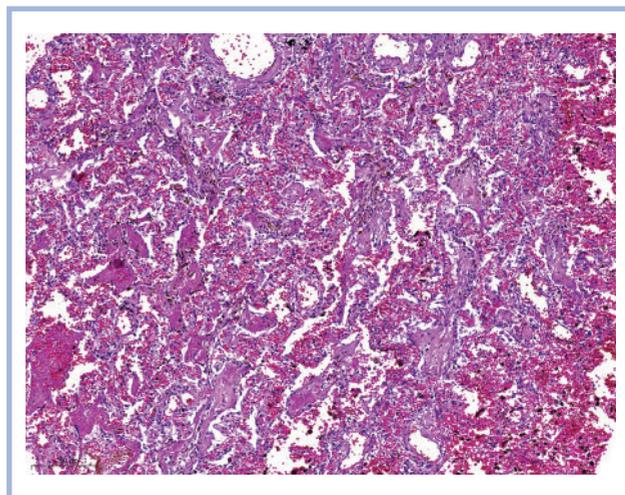


**Рис. 11.** Внутриальвеолярный отек, макрофаги в просветах альвеол, десквамация альвеолоцитов II типа.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 20$ .

**Fig. 11.** Intraalveolar edema, macrophages in the lumens of alveoli, desquamation of type II alveolar cells.

H&E,  $\times 20$ .



**Рис. 12.** Полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок, внутриальвеолярное скопление фибрина (слева), разрастание в просветах альвеол грануляционной ткани (справа).

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

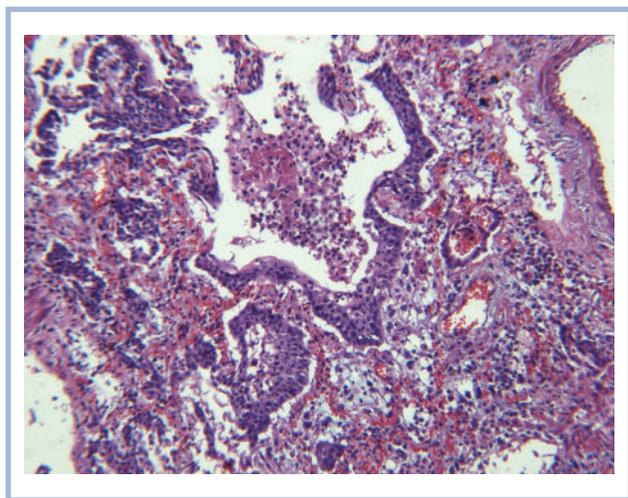
**Fig. 12.** Capillary congestion in intraalveolar septa, intraalveolar accumulation of fibrin (left), proliferation of granulation tissue in the lumens of alveoli (right).

H&E,  $\times 100$ .

Во втором наблюдении у умершего выявлены признаки аспирационной пневмонии при наличии пищевых фрагментов в просветах альвеол, бронхиол и бронхов. При этом в других участках легкого обнаружены отек и гиалиновые мембраны.

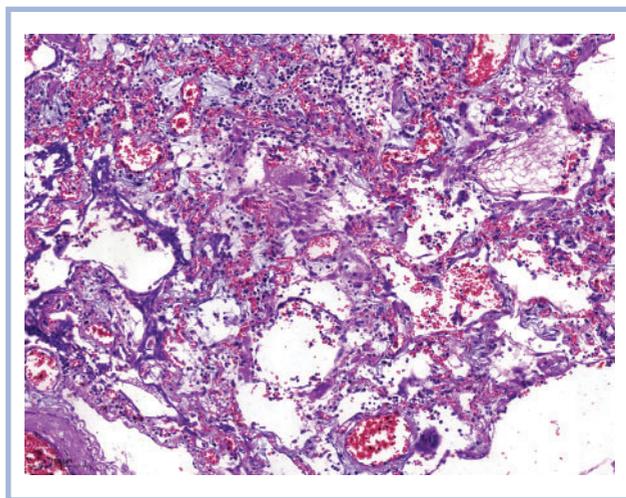
У трети умерших обнаружена гиперплазия селезенки (масса от 200 до 450 г) с умеренно выраженным соскобом пульпы. При гистологическом исследовании определялось опустошение Т- и В-зависимых зон лимфоидной

ткани, в двух наблюдениях — геморрагический инфаркт, в одном — обтурирующий фибриновый тромб в артериоле. В почках в  $\frac{2}{3}$  наблюдений обнаружен некроз эпителия части канальцев, иногда со скоплением в просветах эозинофильных гомогенных масс. В одном наблюдении наряду с некрозом эпителия выявлялись также признаки пролиферации эпителия канальцев. В 10 наблюдениях присутствовали очаговые некрозы кардиомиоцитов, в 2 — участки



**Рис. 13.** Плоскоклеточная метаплазия эпителия альвеол. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ .

**Fig. 13.** Squamous metaplasia of alveolar epithelium. H&E,  $\times 200$ .



**Рис. 14.** Интерстициальное воспаление: отечная миксоидная строма в интерстиции межальвеолярных перегородок и периваскулярно.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 130$ .

**Fig. 14.** Interstitial inflammation: edematous myxoid stroma in perivascular and intraalveolar interstitium.

H&E,  $\times 130$ .

некроза (ишемии) миокарда, в 3 установлены диапедезные кровоизлияния в миокарде и головном мозге, в 1 — признаки миокардита.

В других органах и тканях наблюдали признаки очаговых повреждений тканевых структур вплоть до некроза паренхиматозных клеток, а также изменения, связанные с коморбидными хроническими заболеваниями, ранее имевшимися у умерших.

## Обсуждение

В легких при COVID-19 во всех наблюдениях определялось диффузное альвеолярное повреждение с разной степенью выраженности ДВС-синдрома как и при других вирусных поражениях легких (вызванных SARS-nCoV, MERS-CoV, гриппе A/H1N1) [6,16].

Однако мы установили, что в отличие от вирусной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/H1N1, где фаза диффузного альвеолярного повреждения достаточно четко коррелировала с длительностью заболевания, при новой коронавирусной инфекции нет четкой связи между продолжительностью течения болезни и выявленными морфологическими изменениями. Вероятнее всего, это можно объяснить стертым началом заболевания и наличием периода бессимптомного течения болезни у части пациентов [2]. Установлено, что в так называемом терапевтическом окне (7—10-е сутки заболевания) описанные признаки соответствуют экссудативной стадии диффузного альвеолярного повреждения, следовательно, использование терапии, направленной на улучшение функции дыхания, и коррекция гиперкоагуляции могут дать положительный эффект [13]. При прогрессировании заболевания у пациентов, находящихся в крайне тяжелом состоянии, развиваются организуемая пневмония и очаговый фиброз, что наблюдалось и при гриппе A/H1N1 [2, 19]. Данные о системной гиперкоагуляции при новой коронавирусной инфекции, активно обсуждающиеся в литературе, подтверждаются в нашем ис-

следовании наличием диапедезных кровоизлияний в различных органах. В основном они проявляются в легких в виде очаговых кровоизлияний и инфарктов при наличии тромбов преимущественно в мелких ветвях легочных артерий и вен. При вирусной пневмонии, вызванной вирусом гриппа A/H1N1, ранее мы наблюдали образование тромбов в основном в ветвях легочных вен [6]. Кроме того, отличием от гриппозной пневмонии является обнаружение преимущественно свежих кровоизлияний. Однако эти данные предварительные и требуют анализа более обширного материала. Выявленные мегакарициты в капиллярах межальвеолярных перегородок описаны ранее при остром респираторном дистресс-синдроме, вызванном различными факторами, в том числе вирусной этиологии. По данным авторов, мегакарициты могут участвовать в тромбоцитогенезе, а также способствовать тромбообразованию в различных органах [20]. Однако делать вывод о том, что коагуляционные нарушения наблюдаются преимущественно в легких, мы считаем преждевременным, хотя легкие, несомненно, являются основным органом-мишенью при коронавирусной инфекции [5].

Обсуждается вопрос о доминирующем повреждении коронавирусом SARS-CoV-2 альвеолоцитов II типа. Так, ранее в экспериментальном исследовании продемонстрировано, что вирус SARS-CoV в основном поражает альвеолоциты II типа, а не I [21]. Эти данные, однако, требуют подтверждения для COVID-19, поскольку в раннюю фазу диффузного альвеолярного повреждения мы наблюдали десквамацию альвеолоцитов I типа. В связи с этим предполагаем, что скорее всего имеется повреждение и тех, и других клеток. Обсуждается в литературе вопрос относительно вирусного повреждения лимфоцитов, преимущественно CD4+ T-клеток. Несмотря на то что на лимфоцитах отсутствуют рецепторы к АПФ2, есть предположение, что вирус может проникать в клетку путем слияния мембран и эндоцитоза, в результате чего часть лимфоцитов может погибать, как предполагается, путем апоптоза или пироптоза [13]. Обнаруженные фрагменты клеток в цитоплазме макрофагов могут являть-

ся косвенным свидетельством апоптоза лимфоцитов, однако это требует дальнейшего изучения.

Появление кровоизлияний и тромбов в мелких кровеносных сосудах в других органах, вероятно, связаны с вирусемией у тяжелых пациентов, что приводит к прямому вирусному повреждению эндотелиоцитов с развитием в последующем инфекционно-токсического шока (геморрагического шока), усугубляющего течение COVID-19 [21].

В представленных наблюдениях только у двух умерших была выявлена бактериальная пневмония, при этом в одном из них возникшая, вероятнее всего, как осложнение вирусной. В другом наблюдении имела место аспирационная пневмония, осложнившаяся впоследствии вирусной пневмонией. Бактериальные осложнения скорее всего не являются частым осложнением COVID-19, однако могут развиваться у лиц, находящихся на инвазивной вентиляции. В то же время следует помнить, что высокие титры бактериальных возбудителей не всегда свидетельствуют о развитии вирусно-бактериального поражения [22].

## Заключение

При COVID-19 у тяжелых больных возникает вирусная интерстициальная пневмония с развитием диффуз-

ного альвеолярного повреждения, нередко с выраженным альвеолярно-геморрагическим синдромом и распространенным тромбозом микроциркуляторного русла, реже — крупных сосудов легких, которое обуславливает тяжелое течение заболевания, гипоксию и дыхательную недостаточность.

Неполное соответствие морфологических изменений в легких (фаз диффузного альвеолярного повреждения) длительности заболевания, вероятно, связано с неустановленной продолжительностью бессимптомного течения у многих пациентов. Течение новой коронавирусной инфекции характеризуется преимущественным поражением легких, снижением SpO<sub>2</sub>, лимфопенией с одновременным нарастанием лейкоцитоза, признаков гиперкоагуляции с риском развития тромбозов артерий и вен разных органов и, как следствие, инфарктов легких, миокарда, головного мозга у крайне тяжелых и коморбидных больных.

Предполагаем, что возникновение вирусно-бактериальной пневмонии возможно преимущественно у лиц при интубации трахеи с трахеостомой и длительным проведением ИВЛ.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Roujian Lu, Xiang Zhao, Juan Li, Peihua Niu, Bo Yang, Honglong Wu, Wenling Wang, Hao Song, Baoying Huang, Na Zhu, Yuhai Bi, Xuejun Ma, Faxian Zhan, Liang Wang, Tao Hu, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Wei Cao, Taisheng Li. COVID-19: towards understanding of pathogenesis. *Cell Res*. 2020;30(5):367-369. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0327-4>
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-80.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, Niemeyer D, Jones TC, Vollmar P, Rothe C, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
- Yan Zhang, Meng Xiao, Shulan Zhang, Peng Xia, Wei Cao, Wei Jiang, Huan Chen, Xin Ding, Hua Zhao, Hongmin Zhang, Chunyao Wang, Jing Zhao., Xuefeng Sun, Ran Tian, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;382(17):e38. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2007575>
- Цинзерлинг А.В. *Этиология и патологическая анатомия острых респираторных инфекций*. Л.: Медицина; 1977. Tsinzlerling AV. *Etiologiya i patologicheskaya anatomiya ostrykh respiratornykh infektsii*. L.: Meditsina; 1977. (In Russ.).
- Ning Tang, Dengju Li, Xiong Wang, Ziyong Sun. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
- Meijuan Zheng, Yong Gao, Gang Wang, Guobin Song, Siyu Liu, Dandan Sun, Yuanhong Xu, Zhigang Tian. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(5):533-535. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>
- Chuan Qin, Luoqi Zhou, Ziwei Hu, Shuoqi Zhang, Sheng Yang, Yu Tao, Cuihong Xie, Ke Ma, Ke Shang, Wei Wang, Dai-Shi Tian. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa248. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
- Fei Zhou, Ting Yu, Ronghui Du, Guohui Fan, Ying Liu, Zhibo Liu, Jie Xiang, Yeming Wang, Bin Song, Xiaoying Gu, Lulu Guan, Yuan Wei, Hui Li, Xudong Wu, Jiuyang Xu, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- Taisheng Li, Zhifeng Qiu, Linqi Zhang, Yang Han, Wei He, Zhengyin Liu, Xiaojun Ma, Hongwei Fan, Wei Lu, Jing Xie, Huanling Wang, Guohua Deng, Aixia Wang. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis*. 2004;189(4):648-651. <https://doi.org/10.1086/381535>
- O'Donnell R, Tasker RC, Roe MF. SARS: understanding the coronavirus. *BMJ*. 2003; 327:620.
- Ling Lin, Lianfeng Lu, Wei Cao, Taisheng Li. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection — a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):727-732. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1746199>
- Зайратьянц О.В., ред. *Правила работы патологоанатомических отделений при подозрении на новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) патологическая анатомия COVID-19. Временные методические рекомендации. Версия 2*. М. 2020. Zairat'yants OV, ed. *Pravila raboty patologoanatomicheskikh otdelenii pri podozrenii na novuyu koronavirusnuyu infektsiyu (COVID-19)*

- patologicheskaya anatomiya COVID-19. Vremennye metodicheskie rekomendatsii. Versiya 2. M. 2020. (In Russ.).*
15. Liu Q, Wang RS, Qu GQ, et al. Gross examination report of a COVID-19 death autopsy. *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2020;36(1):21-23. <https://doi.org/10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005>
  16. Petrosillo N, Viceconte G, Ergonul O, Ippolito G, Petersen E. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clin Microbiol Infect.* 2020. pii: S1198-743X(20)30171-3. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.026>
  17. Qun Li, XuhuaGuan, Peng Wu, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus — infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382(13):1199-1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
  18. Yao XH, Li TY, He ZC, Ping YF, Liu HW, Yu SC, Mou HM, Wang LH, Zhang HR, Fu WJ, et al. A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020;49(5):411-417. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112151-20200312-00193>
  19. Черняев А.Л., Зайратьянц О.В., Полянко Н.И., Келли Е.И., Рогов К.А., Михалева Л.М., Чарторижская Н.Н., Трусов А.Е., Самсонова М.В., Чучалин А.Г. Патологическая анатомия гриппа А/Н1N1. *Архив патологии.* 2010;72(3):3-6.
  - Chernyaev AL, Zairat'yants OV, Polyanko NI, Kelli EI, Rogov KA, Mikhaleva LM, Chartorizhskaya NN, Trusov AE, Samsonova MV, Chuchalin AG. Patologicheskaya anatomiya grippa A/H1N1. *Archive of Pathology/Arkhiv patologii.* 2010;72(3):3-6. (In Russ.).
  20. Кунгурова В.В., Хасанянова С.В. К вопросу о мегакарицитозе в сосудах микроциркуляции при различных видах наступления смерти (по данным судебно-гистологических исследований). *Проблемы экспертизы в медицине.* 2015;5(57-58):15-17.  
Kungurova VV, Khasanyanova SV. K voprosu o megakariotsitose v sosudakh mikrotsirkulyatsii pri razlichnykh vidakh nastupleniya smerti (po dannym sudebno-gistologicheskikh issledovaniy). *Problemy ekspertizy v meditsine.* 2015;5(57-58):15-17. (In Russ.).
  21. Qian Z, Travanty EA, Oko L, et al. Innate immune response of human alveolar type II cells infected with severe acute respiratory syndrome-coronavirus. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;48:742-748.
  22. Xu Zhe, Shi Lei, Yijin Wang, Jiyuan Zhang, Lei Huang, Chao Zhang, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8(4):420-422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)

Поступила 11.04.2020

Received 11.04.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Алкаптонурия — морфологические изменения тканей суставов. Обзор литературы и собственные наблюдения

© С.Г. РАДЕНСКА-ЛОПОВОК<sup>1,2</sup>, А.А. ТИМАКОВА<sup>1</sup>, А.В. КУЗИН<sup>2,3</sup>, В.Ю. МУРЫЛЕВ<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва, Россия;

<sup>4</sup>ГКБ им. С.П. Боткина, Московский городской центр эндопротезирования костей и суставов, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Алкаптонурия (охроноз) — редкое наследственное заболевание, связанное с нарушением обмена аминокислоты тирозина и аутосомно-рецессивным типом наследования. Характеризуется врожденным дефицитом фермента гомогентизиназы, что приводит к неполному расщеплению гомогентизиновой кислоты, ее экскреции с мочой и отложению этого метаболита в тканях. Поражается прежде всего соединительная ткань кожи, суставов, позвоночника, аортальных клапанов. Ген оксидазы гомогентизиновой кислоты человека локализован в длинном плече 3-й хромосомы человека (3q 21-23).

**Материал и методы.** Описаны морфологические изменения тканей коленного и тазобедренного суставов у 11 больных с достоверным диагнозом алкаптонурии. Диагноз был поставлен на основании клинических признаков, генетического исследования и подтвержден морфологическими данными.

**Результаты.** Выявлены отложения алкаптона во всех тканях суставов, гипертрофия и гиперплазия синовиальной оболочки, дистрофические изменения хряща, нарушение архитектоники кости и склероз межбалочных пространств костей, повышенная петрификация хряща и кости.

**Заключение.** Показаны распространенное отложение пигмента в соединительной ткани и деструкция компонентов суставов, приведшие к инвалидизации и показаниям к эндопротезированию.

**Ключевые слова:** алкаптонурия, морфология охроноза, патогенез охроноза, диагностика алкаптонурии, артрит, артропатия.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Раденска-Лоповок С.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-4669-260X>

Тимакова А.А. — <https://orcid.org/0000-0003-0269-4969>.

Кузин А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-1262-932X>.

Мурылев В.Ю. — <https://orcid.org/0000-0001-5753-8926>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Раденска-Лоповок С.Г., Тимакова А.А., Кузин А.В., Мурылев В.Ю. Алкаптонурия — морфологические изменения тканей суставов. Обзор литературы и собственные наблюдения. *Архив патологии*. 2020;82(4):41-46. <https://doi.org/10.17116/patol20208204141>

## Alkaptonuria — morphological lesions of articular tissues. Literature review and case report

© S.G. RADENSKA-LOPOVOK<sup>1,2</sup>, A.A. TIMAKOVA<sup>1</sup>, A.V. KUZIN<sup>2,3</sup>, V.YU. MURYLEV<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>A.V. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** Alkaptonuria (ochronosis) is a rare hereditary disease of metabolic disorders of tyrosine with an autosomal-recessive type of inheritance. Men get sick more often. The human homogenetic acid oxidase gene (HGD) is located on the long arm 3 of the human chromosome (3q 21-23). It affects primarily the connective tissue — skin, joints, spine, aortic valves.

**Material and methods.** Morphological changes in the tissues of the knee and hip joints of 11 patients with a reliable diagnosis of alkaptonuria are described. The diagnosis was made based on clinical signs, genetic research and confirmed by morphological data.

**Results.** There were revealed deposits of alkapton in all tissues of the joints, hypertrophy, and hyperplasia of the synovial membrane, cartilage degenerative changes, architectonics lesions of the bone and sclerosis of the inter-beam spaces of the bones. There was increased petrification of cartilage and bone.

**Conclusion.** The deposition of pigment in the connective tissue is common and destruction of the joint components leads to disability and surgical joint replacement.

**Keywords:** ochronosis, alkaptonuria, morphology of ochronosis, pathogenesis of ochronosis, diagnostics of alkaptonuria, arthritis, arthropathy.

**INFORMATION ABOUT AUTHORS:**Radenska-Lopovok S.G. — <https://orcid.org/0000-0002-4669-260>Timakova A.A. — <https://orcid.org/0000-0003-0269-4969>Kuzin A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-1262-932X>Murylev V.Yu. — <https://orcid.org/0000-0001-5753-8926>**TO CITE THIS ARTICLE:**Radenska-Lopovok SG, Timakova AA, Kuzin AV, Murylev VYu. Alkaptonuria — morphological lesions of articular tissues. Literature review and case report. *Archive of Pathology = Arhiv patologii*. 2020;82(4):41–46. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204141>

Алкаптонурия (охроноз) — редкое наследственное заболевание нарушения обмена тирозина, встречаемость которого отличается в различных этнических группах. В большинстве стран распространенность этого заболевания составляет 1:100 000—250 000. Среди новорожденных в Индии частота составляет 1:250 000, а в Словакии и Доминиканской Республике — 1:19 000. Эта патология связана с изменением структуры и функции гомогенизат-1,2-диоксигеназы (ГГД) [1–3]. Этот фермент вырабатывается в основном печенью и почками и отвечает за утилизацию гомогенизиновой кислоты (ГТК) — промежуточного продукта деградации тирозина [2]. Недостаточная активность ГГД ведет к системному повышению уровня ГТК и ее накоплению в роговице, коже, соединительной ткани, включающей ушной хрящ, склеру, клапаны сердца, суставные хрящи, сухожилия, связки [3, 4]. Полифенолоксидазы окисляют ГТК с образованием бензохинонов. Последние полимеризуются в меланиноподобные соединения, а именно в алкаптон, который обуславливает характерную окраску тканей [5]. Метаболит способствует дезорганизации коллагена, приводя к склерозированию синовиальной оболочки, появлению трещин в хряще и его дальнейшему повреждению [6]. Механизм отложения полимера ГТК в тканях суставов представляет большой интерес, так как является возможным ключом к эффективному лечению таких больных. Ранее считалось, что первичным местом отложения пигмента являются хондроциты, но позже было замечено, что его накопление идет больше в экстрацеллюлярном матриксе. Так, L. Tinti и соавт. показали в эксперименте на животных, что при окраске по методу Шморля пигмент выявляется как в хондроцитах, так и в межклеточном матриксе. Авторы обсуждали неоднозначную связь между внутриклеточной и внеклеточной пигментацией. С одной стороны, клеточная активность необходима для отложения пигмента, с другой — домены экстрацеллюлярного матрикса сами по себе способны выступать в качестве зародышевых точек отложения полимера ГТК. Доказательством этого послужила выявленная при электронной микроскопии тесная связь между пигментом и фибриллярными структурами. По всей видимости, полимер ГТК обладает высоким сродством к сложному комплексу из волокнистых белков, протеогликанов и мукополисахаридов [7].

Известно, что симптомы артрита при алкаптонурии появляются чаще у представителей мужского пола. Кроме того, у мужчин заболевание протекает тяжелее, чем у женщин [8]. Клинически алкаптонурия проявляется гомогенизиновой ацидурией, синюшно-черной окраской соединительной ткани, развитием порока клапанов сердца, тяжелой артропатией, обусловленной повышенным у таких больных остеокластогенезом [4, 7, 9]. Кроме того, для этого аутосомно-рецессивного заболевания характерно камнеобразование в почках, уретре и предстательной железе [4, 7]. Патогномичным признаком алкаптонурии являются

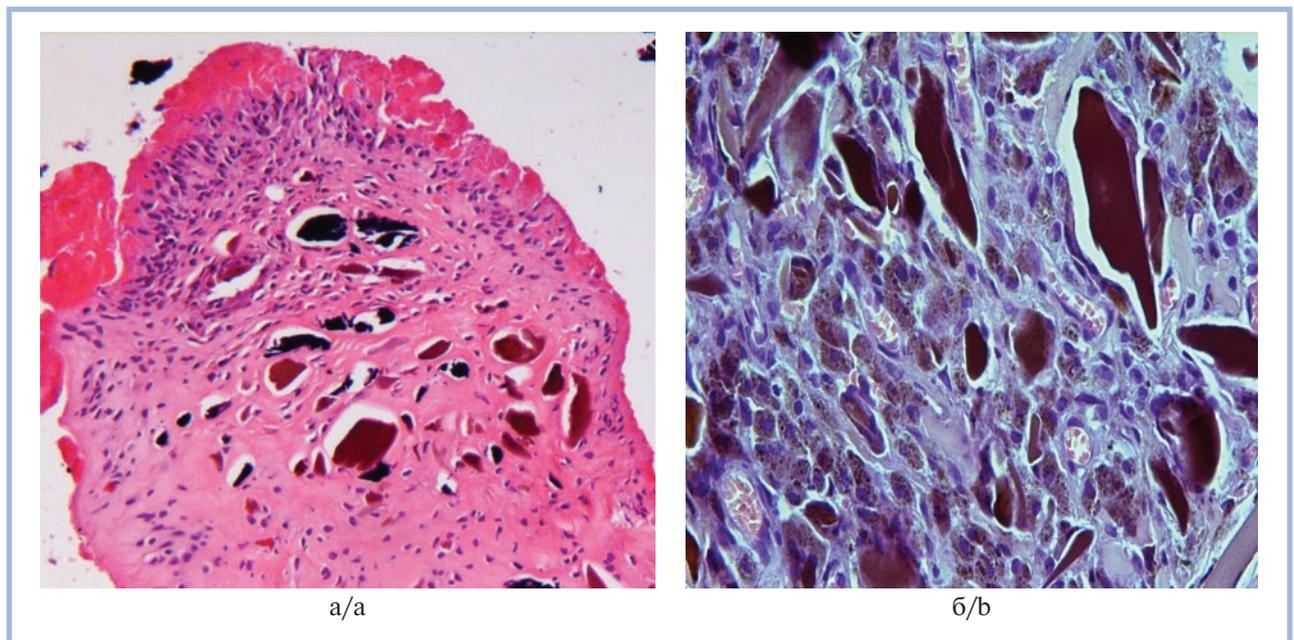
коричневые пигментные пятна на лимбе и так называемые капли масла. Часто встречаются червеобразные депозиты в конъюнктиве в сочетании с расширением сосудов глазного яблока и повышением внутриглазного давления [10]. Редким проявлением служит нейрогенная хромота, возникающая в результате очаговой гипертрофии желтой связки в поясничном отделе позвоночника из-за орхонотичных отложений [5, 8, 11]. Существует также экзогенная алкаптонурия, которой страдают в большей степени индусы и азиаты, использующие отбеливающие кремы для лица и тела [12–14]. Длительное и бесконтрольное использование этих средств, в состав которых входит гидрохинон, приводит к появлению характерной пигментации кожи: нерегулярные кольцевые и дугообразные структуры, червеобразный узор на диффузном коричневом фоне с аморфными участками серо-коричневого цвета [12, 13]. Гистологическое исследование такого участка кожи выявляет удлиненные шаровидные или банановидные отложения золотисто-желтого или охряного пигмента [14]. При окраске метиленовым синим эти отложения приобретают темно-синий цвет [12]. Потенциальным ключом к диагностике алкаптонурии служат так называемые коллагеновые и эластические краевые бляшки кисти: морфологически в них наблюдаются коллаген с депозитами охонотичного пигмента, фрагментированные эластические волокна, аморфные базофильные включения с кальцификацией, а также накопление муцина. В данном случае следует отличать алкаптонурию от фотоповреждений, последствий хронических травм и акрокератоэластоидоза [15].

## Материал и методы

Изучен операционный и биопсийный материал 11 больных алкаптонурией, 10 было проведено тотальное эндопротезирование коленных или тазобедренных суставов, в одном случае забор материала проведен во время артроскопии коленного сустава. Все пациенты — мужчины в возрасте 45–68 лет. Диагноз был установлен на основании клинических признаков, результатов генетического исследования и лабораторных данных. Оперативное лечение выполнено из-за наличия деструктивных изменений в указанных суставах. Исследовали хрящ, кость, фрагменты синовиальной оболочки и капсулы суставов. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, Маллори. Методом Косса выявляли отложения кальция.

## Результаты

Морфологические изменения в тканях суставов имели мозаичный характер. Синовиальная оболочка гипертрофирована. Обнаруживались ворсины с фибриноидным некрозом на поверхности (рис. 1, а). Синовиоциты пролифери-



**Рис. 1. Синовиальная оболочка.**

а — фибриноидный некроз ворсин, пролиферация кроющих синовиоцитов; пластинчатые депозиты коричневого цвета; кальцинаты черно-синего цвета; б — фиброз ткани, пролиферация фибробластов; большое количество депозитов коричневого цвета в строме и цитоплазме клеток. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ .

**Fig. 1. Synovial membrane.**

a — fibrinoid necrosis of the villi, proliferation of laying synoviocytes; brown plate deposits; calcinates in black and blue; b — tissue fibrosis, fibroblasts' proliferation; a large number of brown deposits in the stroma and cells' cytoplasm. H&E,  $\times 150$ .

ровали, местами формировали несколько рядов вытянутых клеток. Субсиновиальный слой склерозирован. В других участках на фоне склерозированного субсиновиального слоя видны скопления пластинчатых депозитов коричневого цвета (рис. 1, б). Фибробласты пролиферировали. Их ядра крупные, овальной формы.

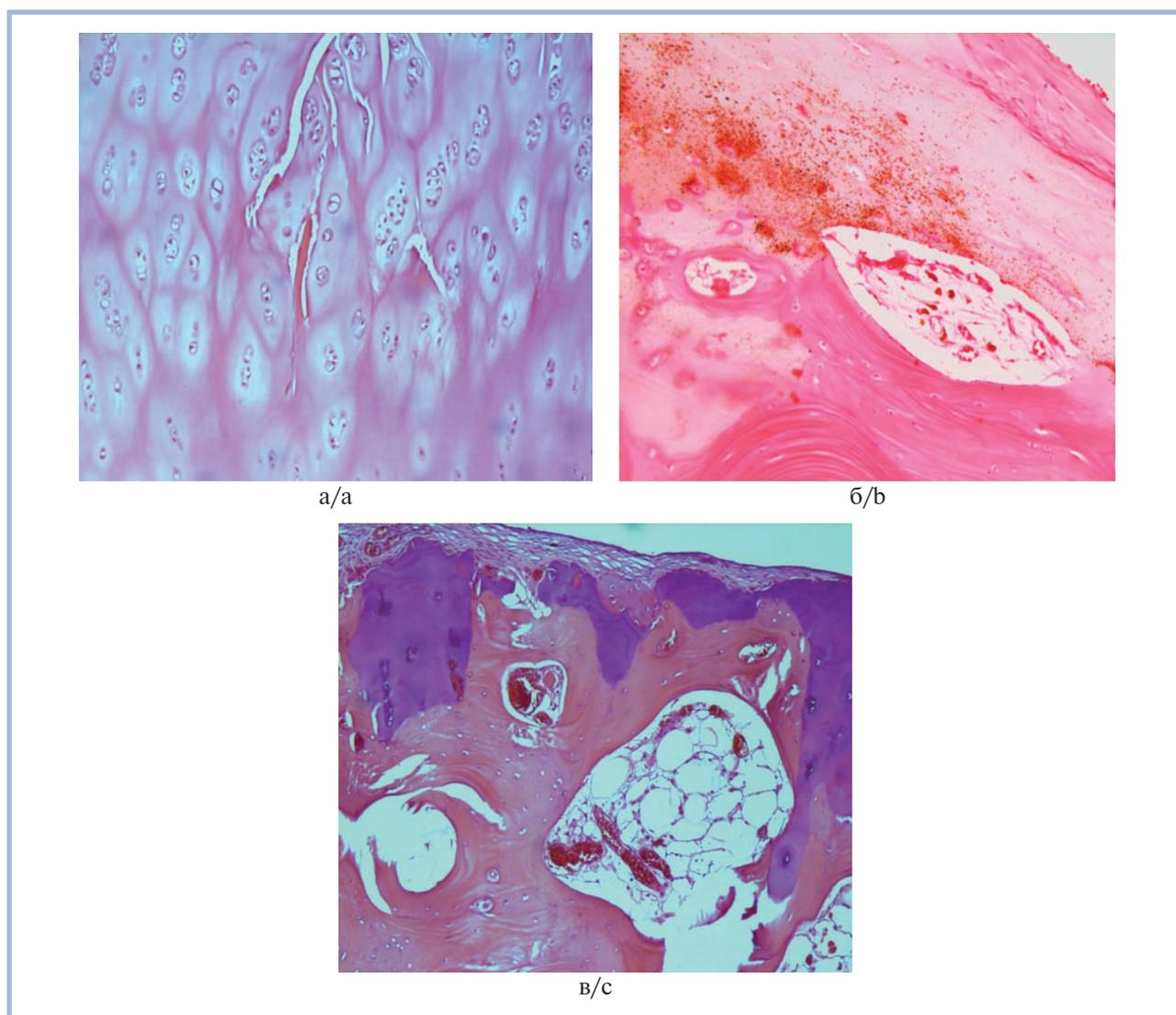
Хрящ имел нарушенную архитектуру. Участки с множеством многоклеточных лакун хаотично чередовались с бесклеточными и одноклеточными полями. Имелись трещины хряща (рис. 2, а). Наряду с этим в матриксе хряща видны гранулярные коричневые депозиты. Определялись полости, содержащие рыхлую фиброзную ткань и сосуды (рис. 2, б). На фоне повреждения хряща определялись отдельно лежащие атрофированные хондроциты, не формирующие лакуны. Отмечалось повышенное отложение кальция в костных балках (рис. 2, в).

Субхондральная кость также вовлекалась в патологический процесс. Костные балки утолщены или фрагментированы. Зоны петрификации имели различную ширину и интенсивность базофилии (рис. 3, а). Межбалочные пространства заполнены рыхлой соединительной тканью с полнокровными сосудами. Определялись клетки, нагруженные коричневым пигментом (см. рис. 3, а), а также пластинчатые депозиты, аналогичные описанным в синовиальной оболочке (рис. 3, б).

## Обсуждение

Развитие алкаптонурии связано с мутацией гена, кодирующего синтез оксидазы ГТК. В наших наблюдениях материал представлен тканями коленного и тазобедренного су-

ставов мужчин с достоверным диагнозом алкаптонурии. Ген оксидазы ГТК локализован на длинном плече 3-й хромосомы человека (3q 21-23). Ранняя диагностика алкаптонурии обеспечивает больному оптимальное качество жизни. Алкаптонурия имеет множество масок: окрашивание мочи не всегда появляется в начале заболевания и даже может быть не расценено пациентом как нечто патологическое, так как изменение цвета происходит после определенного времени ее экспозиции при комнатной температуре [16]. Известно, что симптомы появляются на 3–4-й декаде жизни, а видимая пигментация — только на 4-й, как это и происходило у наших пациентов, т.е. маркеры болезни «отстают» от клинических проявлений [17]. Наиболее частым вариантом манифестации является артропатия, более редким — порок клапанов сердца, возникающий вследствие интра- и экстрацеллюлярного отложения депозитов охронотических пигментов в клапанах сердца, а также (в меньшей степени) в аорте и коронарных артериях. Депозиты являются своеобразным триггером к вторичной дистрофической кальцификации тканей. Наряду с артропатией могут быть и симптомы, симулирующие поражения мочевыводящих путей и предстательной железы [18]. Главной мишенью при алкаптонурии является опорно-двигательный аппарат. У всех пациентов исследуемой группы в целевых суставах (коленных или тазобедренных) диагностирована 3-я или 4-я рентгенологическая стадия остеоартроза (по Kellgren), что в сочетании с торпидным болевым синдромом, резистентным к проводимой терапии, являлось показанием к проведению эндопротезирования. Представленный материал соответствует данным других авторов, указывающим на поражение позвоночника и крупных суставов нижних конечностей (коленных и



**Рис. 2. Хрящ.**

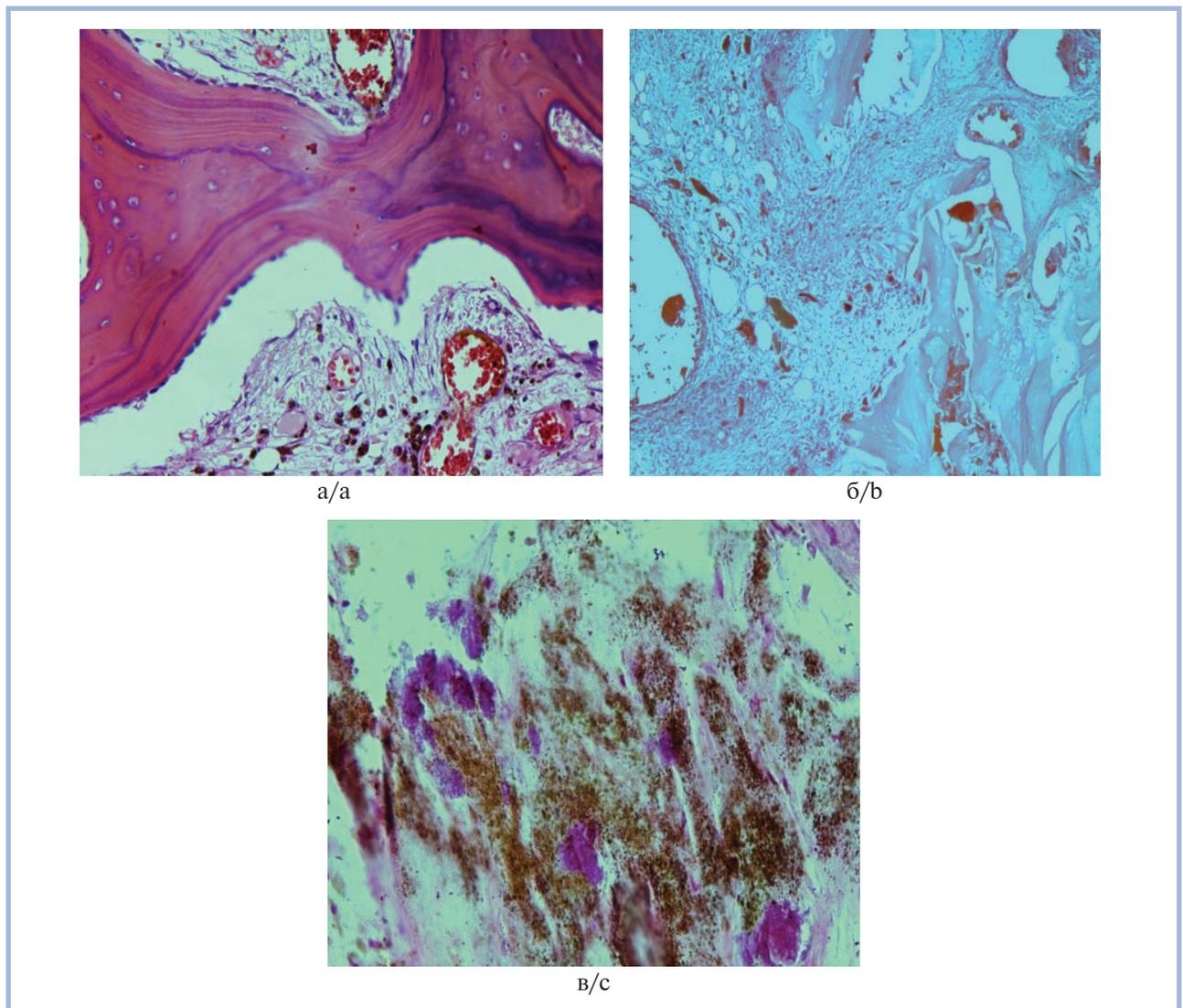
а — трещины хряща, чередование многоклеточных лакун с хондроцитами и бесклеточных зон; б — нарушение архитектоники хряща, гранулярные депозиты коричневого цвета; в — истончение хряща, повышенная петрификация с единичными хондроцитами. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 150$ .

**Fig. 2. Cartilage.**

a — cartilage fissures, alteration of multicellular chondrocytes lacunes and cell-free zones; б — lesion of the cartilage architectonics, brown granular deposits; в — thinning of the cartilage, increased petrification with single chondrocytes. H&E,  $\times 150$ .

тазобедренных) [19, 20]. Мелкие суставы не подвергаются деформации, но в них также обнаруживаются пигментные отложения [21]. При обследовании пациента с помощью компьютерной томографии определяется петрификация хрящей [22]. Мы также выявили множественные петрификаты в мягких тканях и хряще. Помимо развития артропатии у больных может развиваться остеонекроз, требующий протезирования и восстановления функции сустава [23]. Однако таких случаев в нашей практике не было. Важным методом диагностики является гистологическое исследование, которое позволяет дифференцировать охронотические пигменты от кальцинатов. Таким образом, проводится дифференциальный диагноз с микрокристаллической артропатией. В микропрепаратах хряща обнаруживаются глубокая пигментация многочисленных участков с большим количе-

ством пустых лакун, участки с сохраненными хондроцитами и внутриклеточными депозитами пигмента. Некоторые зоны кальцифицированного хрящевого матрикса содержат гранулы пигмента часто в непосредственной близости от пустых лакун хондроцитов. Костная ткань представлена зрелой костью с характерной пластинчатой структурой и множественными остеоцитами без пигмента, а также склерозированным межбалочным пространством. Гистологическое исследование препаратов, окрашенных по методу фон Косса и ализарином красным, показало, что в изученном материале отложения солей кальция в хряще были минимальными и сочетались с наличием охронотического пигмента. Это контрастировало с минерализованной костью, видимой под хрящом. Полимер ГТК, который является небольшой хорошо растворимой молекулой, по всей видимости,



**Рис. 3. Субхондральная кость.**

а — линии петрификации различной ширины; в межбалочных пространствах видны клетки, содержащие коричневые депозиты,  $\times 250$ ; б — межбалочные пространства склерозированы, с депозитами коричневого цвета,  $\times 150$ ; в — кальцинаты синего цвета и алкаптон коричневого цвета,  $\times 400$ . Окраска гематоксилином и эозином.

**Fig. 3. Subchondral bone.**

a — petrification lines of various widths; cells containing brown deposits are visible in the inter-beam spaces,  $\times 250$ ; b — inter-beam spaces are sclerotic, with brown deposits,  $\times 150$ ; c — blue calcifications and brown alkapton,  $\times 400$ . H&E.

связывает матричные белки, которые закреплены в коллагеновых волокнах и вокруг них, что обуславливает диффузную окраску хряща [24].

### Заключение

В представленном материале мы показали отложение алкаптона в различных структурах суставов при алкаптоноурии. Поражаются хрящ, субхондральная кость, синовиальная оболочка и капсула. При морфологической диагностике заболевания важно обнаружить коричневые депозиты пигмента. Чаще они располагаются в межклеточном пространстве. Депозиты могут иметь как гранулярную, так и пластинчатую структуру. Однако размер и распространенность отложений не имеют диагностического значения.

### Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — С.Г. Раденска-Лоповок, А.В. Кузин

Сбор и обработка материала — А.В. Кузин, С.Г. Раденска-Лоповок, В.Ю. Мурылев

Написание текста — С.Г. Раденска-Лоповок, А.А. Тимакова

Редактирование — С.Г. Раденска-Лоповок

Научное руководство — С.Г. Раденска-Лоповок

Подбор литературы, оформление — С.Г. Раденска-Лоповок, А.А. Тимакова

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Aquaron R. Alkaptonuria: a very rare metabolic disorder. *Indian J Biochem Biophys*. 2013;50(5):339-344. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/22650>
2. Millucci L, Bernardini G, Spreafico A, Orlandini M, Braconi D, Laschi M, Geminiani M, Lupetti P, Giorgetti G, Viti C, Frediani B, Marzocchi B, Santucci A. Histological and ultrastructural characterization of alkaptonuric tissues. *Calcif Tissue Int*. 2017;101(1):50-64. <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0260-9>
3. Singh O, Muthukrishna Pandian R, Sudhakar Kekre N. Alkaptonuric ochronosis. *Urology*. 2017;100:3-4. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.09.035>
4. Yucetas SC, Ucler N. Black-colored ligamentum flavum due to alkaptonuria. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2019;80(2):131-133. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1675784>
5. Hamdulay SS, Finegold J, Boyer L, Khanna M, Akmal M, Walker A, Kinderlerer A. Clinical images: Magnetic resonance imaging appearance of alkaptonuria. *Arthritis Rheumatol*. 2012;64(1):129. <https://doi.org/10.1002/art.33357>
6. Pierce TP, Issa K, Ramirez A, Sclafani S, Harwin SF, Scillia AJ, Rifai A, McInerney VK. Ochronosis as etiology of requiring total knee arthroplasty — A case series. *Surg Technol Int*. 2016;29:261-264.
7. Tinti L, Taylor AM, Santucci A, Wlodarski B, Wilson PJ, Jarvis JC, Fraser WD, Davidson JS, Ranganath LR, Gallagher JA. Development of an in vitro model to investigate joint ochronosis in alkaptonuria. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(2):271-277. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq246>
8. Damarla N, Linga P, Goyal M, Tadisina SR, Reddy GS, Bom-misetti H. Alkaptonuria: A case report. *Indian J Ophthalmol*. 2017; 65(6):518-521. [https://doi.org/10.4103/ijo.IJO\\_337\\_16](https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_337_16)
9. Brunetti G, Tummolo A, D'Amato G, Gaeta A, Ortolani F, Piacente L, Giordano P, Colucci S, Grano M, Papadia F, Faienza MF. Mechanisms of enhanced osteoclastogenesis in alkaptonuria. *Am J Pathol*. 2018;188(4):1059-1068. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.12.008>
10. Lindner M, Bertelmann T. On the ocular findings in ochronosis: a systematic review of literature. *BMC Ophthalmol*. 2014;14:12. <https://doi.org/10.1186/1471-2415-14-12>
11. Reddy R, Vijayasaradhi M, Biswal D. Focal ligamentum flavum hypertrophy with ochronotic deposits: an unusual cause for neurogenic claudication in alkaptonuria. *Asian Spine J*. 2012;6(2): 148-151. <https://doi.org/10.4184/asj.2012.6.2.148>
12. Khunger N, Kandhari R. Dermoscopic criteria for differentiating exogenous ochronosis from melasma. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013;79(6):819-821. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.120741>
13. Tekgöz E, Akıncıoğlu E, Çınar M, Yılmaz S. A case of exogenous ochronosis associated with hydroxychloroquine. *Eur J Rheumatol*. 2018;5(3):206-208. <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2018.17190>
14. Bhattar PA, Zawar VP, Godse KV, Patil SP, Nadkarni NJ, Gautam MM. Exogenous ochronosis. *Indian J Dermatol*. 2015;60(6): 537-543. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.169122>
15. Good AJ, Snodgrass AL, De Benedetto A, Motaparthy K. Collagenous and elastotic marginal plaques of the hand: A potential clue to the diagnosis of alkaptonuria. *J Cutan Pathol*. 2019;46(1):74-79. <https://doi.org/10.1111/cup.13368>
16. Lange U, Müller-Ladner U, Dischereit G. Severe osteoarthritic manifestations of ochronosis. *Z Rheumatol*. 2014;73(5):420-423. <https://doi.org/10.1007/s00393-013-1343-2>
17. Rallis E, Kintzoglou S. Ashy ears. *Scientific World J*. 2010;10:1530-1531. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.147>
18. Sali G, Thomas A, Kumar G, Nair B, Sanjeevan K, Mathew G, Nair K. Extensive prostatic calculi in alkaptonuria: An unusual manifestation of rare disease. *Asian J Urol*. 2015;2(3):179-181. <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2015.06.003>
19. Jafri K, Gensler LS, Link TM. Clinical images: Ochronotic arthropathy. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69(11):2208. <https://doi.org/10.1002/art.40184>
20. Rahimizadeh A, Soufiani H, Hassani V, Rahimizadeh A. Symptomatic pseudarthrosis in ochronotic spine: case report. *J Neurosurg Spine*. 2017;26(2):220-228. <https://doi.org/10.3171/2016.5.SPINE15671>
21. Gowda N, Kumar MJ, Kumar AK. Black hip: a rare case treated by total hip replacement. *Ann Saudi Med*. 2013;33(4):368-371. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2013.368>
22. Ranga U, Aiyappan SK, Shanmugam N, Veeraiyan S. Ochronotic spondyloarthropathy. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(2):403-404. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4308.2782>
23. Galanis N, Kyrkos M. Brown urine and black hip. *CMAJ*. 2012; 184(14):1600. <https://doi.org/10.1503/cmaj.111916>
24. Taylor AM, Hsueh MF, Ranganath LR, Gallagher JA, Dillon JP, Huebner JL, Catterall JB, Kraus VB. Cartilage biomarkers in the osteoarthropathy of alkaptonuria reveal low turnover and accelerated ageing. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(1):156-164. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew355>

Поступила 19.02.2020

Received 19.02.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Клинико-морфологический анализ трех случаев секреторной карциномы слюнной железы, ассоциированной со слиянием генов *ETV6—NTRK3*

© Н.В. ШВЕД<sup>1</sup>, И.Л. ПЛАКСА<sup>1,2</sup>, А.С. БУЧАКА<sup>1,3</sup>, Н.А. САВЕЛОВ<sup>1</sup>, Р.В. ДЕЕВ<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62» Департамента здравоохранения Москвы, Московская область, Россия;

<sup>2</sup>ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, Россия;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** — проведение клинико-морфологического анализа пациентов с секреторной карциномой слюнной железы с демонстрацией подходов к дифференциальной диагностике и использованием молекулярно-генетических методов.

**Материал и методы.** Выполнен ретроспективный анализ опухолей слюнных желез из архива патолого-анатомического отделения МГОБ №62 (Москва) за период с 2015 по 2019 г. При наличии у опухоли гистологических характеристик, соответствующих секреторной карциноме, согласно классификации ВОЗ (Лион, 2017), выполнялись иммуногистохимическое исследование с антителами к S100, маммаглобину, р63, кальпонину, гладкомышечному актину, Ki-67, а также флуоресцентная гибридизация *in situ* для обнаружения перегруппировки гена *ETV6* с использованием локуспецифичных зондов.

**Результаты.** Из 308 случаев первичных опухолей слюнной железы выявлено 3 случая, которые по своим гистологическим характеристикам, рекомендованным классификацией ВОЗ (Лион, 2017), соответствовали критериям секреторной карциномы. В 2 из 3 случаев опухоль локализовалась в мягком небе и в 1 — в околоушной слюнной железе. Во всех случаях заболевание характеризовалось индолентным течением, медленным увеличением опухоли на протяжении длительного времени. Опухоль представлена хорошо ограниченным, неинкапсулированным узловым образованием дольчатого вида с четкими контурами, которое было разделено прослойками из волокнистой соединительной ткани. Клетки опухоли содержали оксифильную вакуолизированную или зернистую цитоплазму, ядра с мелкодисперсным хроматином и центральным расположением хорошо различимых ядрышек. При иммуногистохимическом исследовании во всех случаях наблюдалось выраженное ядерно-цитоплазматическое окрашивание с антителами к S100 и маммаглобину. Транслокация t(12;15)(p13;q25) и слияние генов *ETV6—NTRK3* были подтверждены FISH-методом во всех трех случаях.

**Заключение.** Представленный разбор клинических случаев секреторной карциномы слюнной железы и краткий обзор литературы отражают важное значение диагностических навыков врача-морфолога в выявлении среди общего потока пациентов с солидными опухолями специфической группы больных, у которых наиболее высока вероятность реаранжировки гена *NTRK*, что ассоциировано с возможностью применения таргетной терапии.

**Ключевые слова:** секреторная карцинома слюнной железы, *NTRK*, энтректиниб.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Швед Н.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6462-1875>

Плакса И.Л. — <https://orcid.org/0000-0001-6600-0933>

Бучака А.С. — <https://orcid.org/0000-0003-3580-1492>

Савелов Н.А. — e-mail: [niksavelov@yandex.ru](mailto:niksavelov@yandex.ru)

Деев Р.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Швед Н.В., Плакса И.Л., Бучака А.С., Савелов Н.А., Деев Р.В. Клинико-морфологический анализ трех случаев секреторной карциномы слюнной железы, ассоциированной со слиянием генов *ETV6—NTRK3*. *Архив патологии*. 2020;82(4):47-52. <https://doi.org/10.17116/patol20208204147>

## Clinical and morphological analysis of three cases of secretory salivary carcinoma associated with *ETV6—NTRK3* gene fusion

© N.V. SHVED<sup>1</sup>, I.L. PLAKSA<sup>1,2</sup>, A.S. BUCHAKA<sup>1,3</sup>, N.A. SAVELOV<sup>1</sup>, R.V. DEYEV<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Moscow City Oncology Hospital №62, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Human Stem Cell Institute, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Ryazan State Medical University named after Acad. I.P. Pavlov, Ryazan, Russia;

<sup>4</sup>North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Автор, ответственный за переписку: Плакса И.Л. — e-mail: [plaksa2014@yandex.ru](mailto:plaksa2014@yandex.ru)

Corresponding author: Plaksa I.L. — e-mail: [plaksa2014@yandex.ru](mailto:plaksa2014@yandex.ru)

**ABSTRACT**

**Aim of study.** Clinical and morphological analysis of patients with secretory carcinoma of the salivary gland with a demonstration of approaches to differential diagnosis and the use of molecular genetic methods.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of salivary gland tumors was performed from the archive of the pathological and anatomical department of Moscow City Hospital No. 62 (Moscow) for the period from 2015 to 2019. If the tumor has histological characteristics corresponding to secretory carcinoma, according to the WHO classification (Lyon, 2017), an immunohistochemical study was performed with antibodies to S100, mammaglobin, p63, calponin, smooth muscle actin, Ki-67, as well as *in situ* fluorescence hybridization to detect ETV6 gene rearrangement using locus-specific probes.

**Results.** From 308 cases of primary salivary gland tumors, 3 were identified that met the criteria for secretory carcinoma recommended by the WHO classification (Lyon, 2017) according to their histological characteristics. In 2 of 3 cases, the tumor was localized in the soft palate and in 1 case in the parotid salivary gland. In all cases, the disease was characterized by an indolent course, a slow tumor growth over a long time. The tumor is represented by a well-limited, unencapsulated nodular formation of a lobed appearance with clear contours, which was separated by layers of fibrous connective tissue. Tumor cells contained oxyphilic vacuolated or granular cytoplasm, nuclei with finely divided chromatin and a central location of well-defined nucleoli. An immunohistochemical study in all cases showed pronounced nuclear cytoplasmic coloring with antibodies to S100 and mammaglobin. Translocation t(12; 15)(p13; q25) and ETV6-NTRK3 gene fusion were confirmed by the FISH method in all three cases.

**Conclusion.** The presented analysis of clinical cases of salivary gland secretory carcinoma and a brief review of literature reflect the importance of diagnostic skills of the morphologist in identifying among the general stream of patients with solid tumors a specific group of patients who are most likely to rearrange the NTRK gene, which is associated with the possibility to use targeted therapy.

**Keywords:** salivary secretory carcinoma, NTRK, entrectinib.

**INFORMATION ABOUT AUTHORS:**

Shved N.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6462-1875>

Plaksa I.L. — <https://orcid.org/0000-0001-6600-0933i>

Buchaka A.S. — <https://orcid.org/0000-0003-3580-1492>

Savelov N.A. — e-mail: [niksavelov@yandex.ru](mailto:niksavelov@yandex.ru)

Deev R.V. — <https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Shved NV, Plaksa IL, Buchak AS, Savelov NA, Deev RV. Clinical and morphological analysis of three cases of secretory salivary carcinoma associated with ETV6—NTRK3 gene fusion. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):47-52. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204147>

Секреторная карцинома (СК) слюнной железы — злокачественная опухоль, как правило, низкой степени злокачественности, ассоциированная с формированием химерного гена ETV6—NTRK3. Впервые она была описана A. Scalova и соавт. в 2010 г. [1]. В ходе повседневной диагностической работы ими было замечено, что некоторые опухоли слюнной железы имеют сходное гистологическое строение с уже известной на тот момент СК молочной железы [2]. Ретроспективный анализ показал, что эти опухоли имеют аналогичный иммунофенотип и молекулярно-генетические нарушения, в связи с чем для них было предложено название «аналог секреторной карциномы молочной железы» (Mammary Analogue Secretory Carcinoma — MASC). По мере появления работ других авторов стало понятно, что так называемая MASC является самостоятельной формой с особенными биологическими характеристиками. В результате в классификации ВОЗ 2017 г. MASC была выделена в качестве отдельной нозологической формы под названием «секреторная карцинома» [3].

Молекулярно-генетическая особенность СК — наличие специфической реаранжировки гена ETV6. Наиболее частым ее вариантом является транслокация этого гена на 12-ю хромосому с образованием слияния ETV6—NTRK3 [4]. Это приводит к формированию химерного белка-онкогена, обладающего тирозинкиназной активностью, что сопровождается нарушением процесса пролиферации и играет важное значение в онкогенезе. Появление в 2018 г. препарата витракви (ларотрентиниб), первого ингибитора тирозинкиназы для лечения прогрессирующих солидных опухолей со слиянием гена NTRK, дало возможность у пациентов с СК в отличие от больных с большинством других карцином слюнной железы использовать таргетную терапию [5].

По данным J. Solomon и соавт. (2019), частота встречаемости реаранжировки гена NTRK при солидных опухолях невысока и составляет от 0,13% в опухолях молочной железы до 5,08% в опухолях слюнной железы, что делает малоэффективным выполнение генетического тестирования всем пациентам с целью поиска кандидатов для применения таргетной терапии [6]. Однако при некоторых специфических формах, таких как, например, СК слюнной железы или воспалительная миофибробластическая опухоль, частота встречаемости этой реаранжировки может достигать соответственно 100 и 17%. Это определяет важное значение выделения пациентов с этими редкими и специфическими формами из общего потока больных с солидными опухолями на основе морфологических критериев. Согласно образному описанию онколога Сантьяго Рамон Кахала на конференции Европейского общества медицинской онкологии (European Society Medical Oncology — ESMO) в 2019 г., патоморфолог выполняет своего рода функцию «фильтра», который обеспечивает выявление пациентов с опухолями, в которых существует наибольшая вероятность реаранжировки гена NTRK. **Цель исследования** — проведение клинко-морфологического анализа этой группы пациентов с демонстрацией подходов к дифференциальной диагностике СК слюнной железы с использованием молекулярно-генетических методов.

**Материал и методы**

Выполнен ретроспективный анализ доброкачественных и злокачественных опухолей слюнных желез из архива патолого-анатомического отделения МГОб №62 (Москва) за период с 2015 по 2019 г. ( $n=308$ ). Отбор случаев,

подозрительных в отношении СК, проводили в соответствии с критериями постановки диагноза классификации ВОЗ (Лион, 2017). Дифференциальную диагностику СК слюнной железы наиболее часто осуществляли с ацинозно-клеточной карциномой и мукоэпидермоидной карциномой.

При наличии у опухоли гистологических характеристик, соответствующих СК, выполняли иммуногистохимическое исследование с антителами к S100 (polyclonal, Dako, США), маммаглобину (клон 304-1A5, Dako, США), p63 (клон 4A4, Roche, США), кальпонину (EP798Y, CellMarque, США), гладкомышечному актину (клон 1A4, Dako, США), Ki-67 (30-9, Ventana, США), а также флюоресцентную гибридизацию *in situ* (Fluorescence In Situ Hybridization — FISH) для обнаружения перегруппировки гена *ETV6* с использованием локуспецифичных зондов *ETV6 Break Apart FISH Probe Kit* (Cytotest, США), которая основана на выявлении точки отрыва (breakapart). При использовании этой пробы в отсутствие транслокации видны 2 слитных сигнала желтого цвета, при транслокации — 1 слитный и 2 отдельных сигнала: 1 оранжевый и 1 зеленый на дистанции не менее 1 ядра между ними. Оценку сигналов выполняли по меньшей мере на 40 морфологически сохранных ядрах опухолевых клеток. Опухоль считали ассоциированной со слиянием генов *ETV6*—*NTRK3* при выявлении транслокации более чем в 15% ядер.

## Результаты

### Клинические характеристики и период наблюдения

Проанализировано 308 случаев первичных опухолей слюнной железы. Среди них выявлено 3 случая, которые по своим гистологическим характеристикам соответствовали критериям СК, рекомендованным классификацией ВОЗ (Лион, 2017). В 2 из 3 случаев опухоль локализовалась в мягком небе и в 1 — в околоушной слюнной железе. Во всех случаях заболевание характеризовалось индолентным течением, медленным увеличением опухоли на протяжении длительного времени (от 5 мес до 6 лет), а сам раз-

мер опухолевого узла на момент обращения не превышал 2 см. У всех пациентов исходный диагноз отличался от СК: у пациента №1 диагностирован мукоэпидермоидный рак, №2 — миоэпителиома и у №3 — метастаз папиллярного рака щитовидной железы в слюнной железе. Пациенту №1 по причине нерадикального выполнения хирургического лечения была также проведена дистанционная лучевая терапия в суммарной очаговой дозе 66 Гр на фоне еженедельного приема цисплатина в дозе 30 мг. Все пациенты находятся в стадии ремиссии с периодом наблюдения от 6 мес до 5 лет (таблица).

### Гистологические и цитологические характеристики

Макроскопически во всех случаях опухоль представляла эластичное узловое образование белесоватого или серого цвета на разрезе. Гистологически при малом увеличении опухоль — хорошо ограниченное, неинкапсулированное узловое образование дольчатого вида с четкими контурами, которое разделено прослойками из волокнистой соединительной ткани. Структура опухоли имела кистозный, тубулярный или солидный паттерн роста. Определяли участки инвазии опухоли в окружающую ткань слюнной железы и жировую ткань. Клетки опухоли содержали оксифильную вакуолированную или зернистую цитоплазму, ядра с мелкодисперсным хроматином и центральным расположением хорошо различимых ядрышек (рис. 1). Ни в одном из случаев не выявляли периневральную и сосудистую инвазию, некроз опухоли, а также характерную для ацинозно-клеточной карциномы серозную ацинарную дифференцировку.

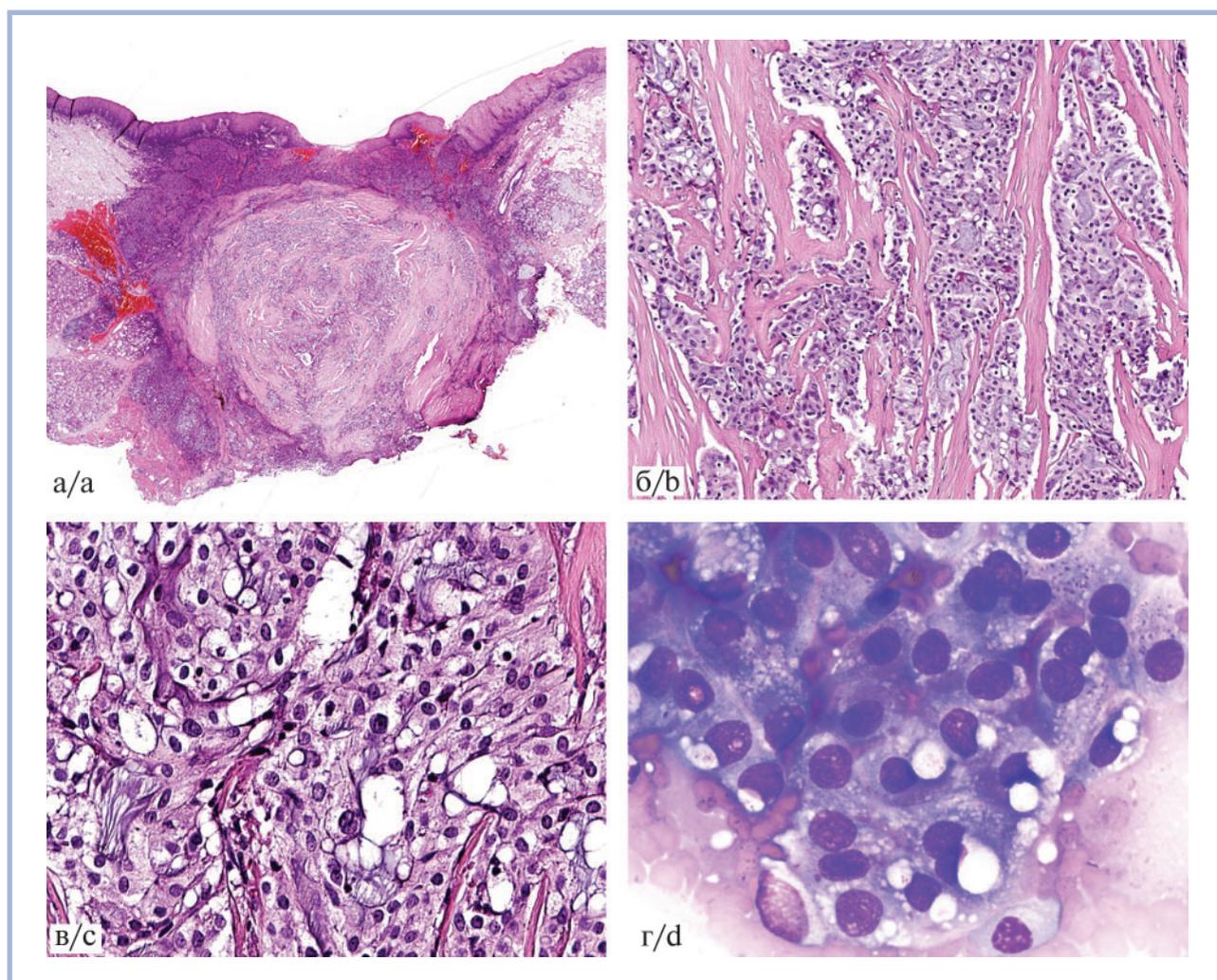
### Иммуногистохимические и молекулярно-генетические характеристики

При иммуногистохимическом исследовании во всех случаях наблюдалось выраженное ядерно-цитоплазматическое окрашивание с антителами к S100, маммаглобину и ядерное окрашивание с антителами к GATA3, что является специфичным для секреторной карциномы и отражает сходство

### Клинические характеристики пациентов с секреторной карциномой слюнной железы

Характеристика	Пациент		
	№1	№2	№3
Возраст, лет/пол	50/м	78/м	36/ж
Локализация	Мягкое небо	Мягкое небо	Правая околоушная железа
Размер, см	1,5×1,3×1,2	1,2×0,6×0,5	1,9×1,6×1,4
Продолжительность жалоб, годы	6	1,5	5
Клинические проявления	Наличие на поверхности мягкого неба изъязвления размером 0,5×0,4 см	Выбухающее из-под слизистой округлое образование	Появление безболезненного узлового образования размером 1,8×1,6 см в правой околоушной области
Стадия на момент постановки диагноза	T1N0M0	T1N0M0	T1N0M0
Исходный диагноз	Мукоэпидермоидный рак	Миоэпителиома	Метастаз папиллярного рака щитовидной железы/ аденокарцинома неспецифического типа
Лечение	Хирургическое лечение/ДЛТ СОД 66 Гр на фоне еженедельного приема цисплатина в дозе 30 мг	Хирургическое лечение	Хирургическое лечение
Период наблюдения/статус	2 года/ремиссия	5 лет/ремиссия	6 мес/ремиссия

Примечание. ДЛТ — дистанционная лучевая терапия; СОД — суммарная очаговая доза.



**Рис. 1. Секреторная карцинома слюнной железы пациента №1.**

а — опухоль представлена узловым образованием с четким контуром, с участками инвазии в окружающую ткань слюнной железы и наличием изъязвления эпителия мягкого неба в проекции опухоли,  $\times 40$ ; б — смешанный паттерн роста опухоли — солидный, микрокистозный и тубулярный,  $\times 100$ ; в — везикулярные ядра с мелкодисперсным хроматином и видимыми ядрышками,  $\times 400$ ; г — обильная вакуолизированная цитоплазма опухолевых клеток секреторной карциномы (цитологический препарат). Окраска: а—в — гематоксилином и эозином; г — по Романовскому—Гимзе.

**Fig. 1. Secretory carcinoma of the salivary gland of patient №1.**

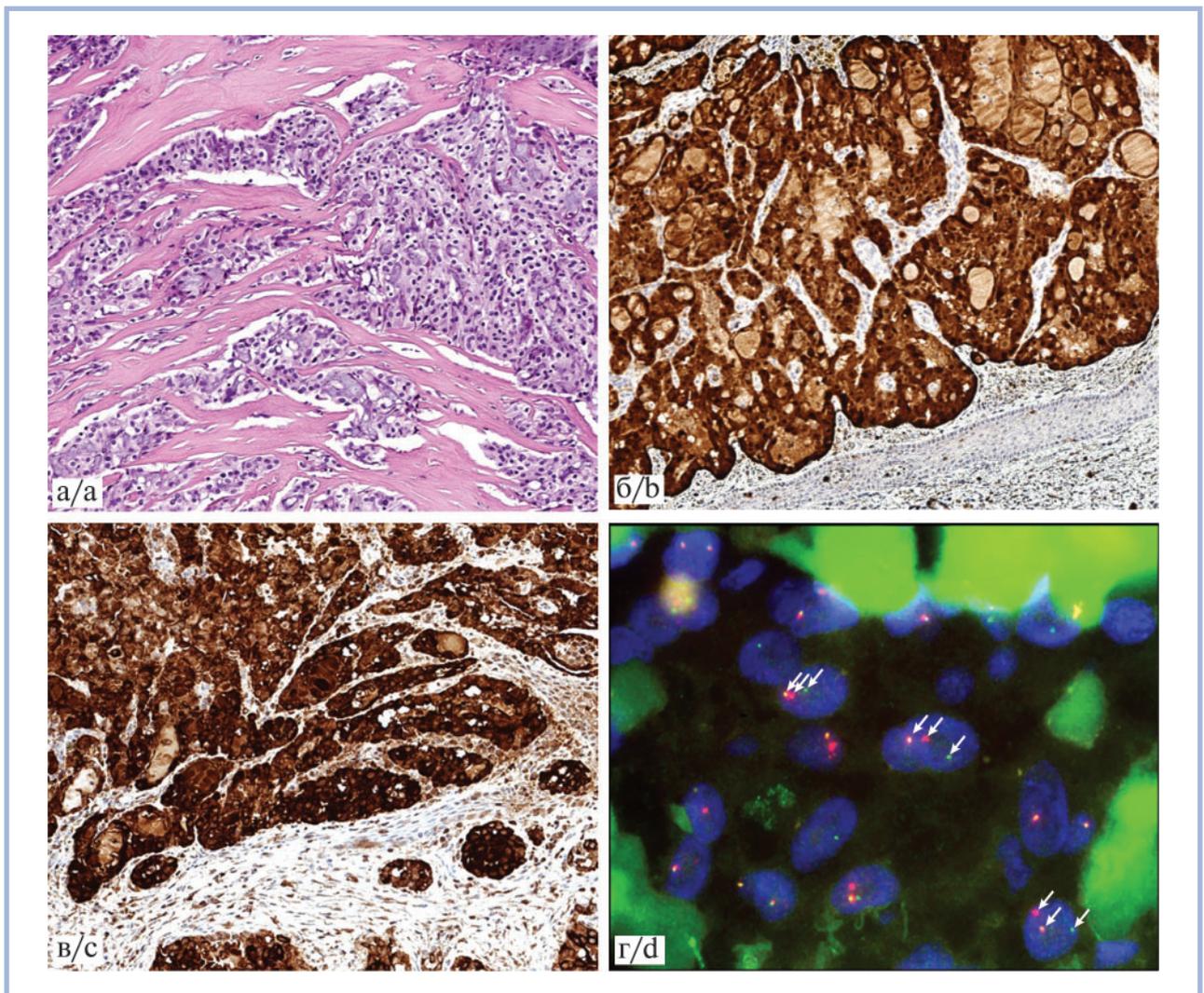
а — the tumor is represented by a nodular formation with a clear contour, with areas of invasion into surrounding tissue of salivary gland and the presence of ulceration of soft palate epithelium in the projection of tumor,  $\times 40$ ; б — a mixed tumor growth pattern — solid, microcystic and tubular,  $\times 100$ ; в — vesicular nuclei with finely divided chromatin and visible nucleoli,  $\times 400$ ; д — abundant vacuolated cytoplasm of tumor cells of secretory carcinoma (cytological preparation). Staining: а—с — H&E; д — according to Romanovsky—Giemsa.

с иммунофенотипом аналогичных опухолей молочной железы. Базально-клеточные/миоэпителиальные маркеры, такие как p63, кальпонин и гладкомышечный актин, негативны во всех случаях. Проллиферативная активность низкая и варьирует от 8 до 16%. Транслокация t(12;15)(p13;q25) и слияние генов *ETV6—NTRK3* подтверждены методом FISH во всех трех случаях, что выражалось формированием отдельных сигналов (оранжевый и зеленый) более чем в 15% ядер клеток опухоли (рис. 2).

## Обсуждение

Несмотря на наличие у всех пациентов характерных для СК слюнной железы гистологических характеристик,

во всех случаях исходный диагноз был иной, что обусловлено сложностями морфологической диагностики и редкой встречаемостью опухоли. Согласно данным ретроспективных исследований в большинстве случаев основным дифференциальным диагнозом при СК является ацинозно-клеточная карцинома [1]. Существует несколько критериев, знание которых позволяет поставить верный диагноз. Во-первых, в цитоплазме клеток СК отсутствует базофильная гранулярность (так называемые зимогенные гранулы), которые характерны для серозных клеток ацинозно-клеточной карциномы. Во-вторых, СК имеет особенности иммунофенотипа — это выраженная ядерно-цитоплазматическое окрашивание с антителами к S100 и диффузное цитоплазматическое окрашивание



**Рис. 2.** Секреторная карцинома слюнной железы пациента №2.

а — участки разрастания волокнистой соединительной ткани среди структур опухоли с формированием ретракционных артефактов,  $\times 100$ ; б — ядерно-цитоплазматическое окрашивание с антителами к S100 в опухолевых клетках,  $\times 100$ ; в — цитоплазматическое окрашивание к маммаглобину в опухолевых клетках и в просвете тубулярных структур,  $\times 100$ ; г — формирование 1 слитного (желтый) и 2 отдельных сигналов (оранжевый и зеленый) в ядрах клеток опухоли, что подтверждает наличие реаранжировки гена *ETV6*,  $\times 1000$ ; а — окраска гематоксилином и эозином; б — ИГХ-реакция с антителами к S100; в — ИГХ-реакция с антителами к маммаглобину; г — FISH-исследование с использованием локуспецифичных зондов ETV6 Break Apart FISH Probe Kit.

**Fig. 2.** Secretory carcinoma of the salivary gland of patient № 2.

а — areas of growth of fibrous connective tissue among the structures of tumor with formation of retraction artifacts,  $\times 100$ ; б — nuclear-cytoplasmic coloring with antibodies to S100 in tumor cells,  $\times 100$ ; в — cytoplasmic coloring for mammaglobin in tumor cells and in the lumen of tubular structures,  $\times 100$ ; д — the formation of 1 fused (yellow) and 2 separate signals (orange and green) in the nuclei of tumor cells, which confirms the presence of rearrangement of *ETV6* gene; а — H&E; б — IHC reaction with antibodies to S100; в — IHC reaction with antibodies to mammaglobin,  $\times 100$ ; д — FISH study using locally-specific probes ETV6 Break Apart FISH Probe Kit,  $\times 1000$ .

с антителами к маммаглобину при отсутствии окрашивания с антителами к DOG1 и p63. В-третьих, в большинстве случаев секреторная карцинома имеет характерную транслокацию *ETV6-NTRK3*, которая никогда не встречается в ацинозно-клеточной карциноме [7]. Как правило, для постановки диагноза СК достаточно правильной интерпретации гистологического строения опухоли в совокупности с результатом иммуногистохимического исследования, однако в сложных ситуациях возможно применение FISH-исследования с целью подтверждения специфической реаранжировки *ETV6*.

Все случаи СК в настоящей работе имели гистологическое строение опухоли низкой степени злокачественности, отмечены индолентное течение и малые размеры. Это характерно для большей части случаев СК, что является благоприятным фактором, так как при небольшом размере опухоли пациент может быть полностью излечен после радикально проведенной операции. Однако после выделения СК в отдельную форму и увеличения частоты ее выявляемости стали появляться сообщения об опухолях с высокой степенью злокачественности [8]. Эти случаи СК клинически характеризуются менее благоприятным

прогнозом, большей частотой метастазирования и более агрессивным локальным ростом. Гистологически это проявляется наличием на фоне типичного строения опухоли низкой степени злокачественности участков с более выраженным ядерным полиморфизмом, утратой железистой структуры и наличием выраженной диффузной ядерной реакции с антителами к *Sucln D1* в низкодифференцированном компоненте опухоли [9]. В связи с этим общепринята точка зрения, что СК может иметь морфологические и клинические проявления как опухоли низкой степени, так и высокой степени злокачественности. При этом возможно наличие обоих компонентов в одной опухоли, что обуславливает необходимость тщательного и тотального исследования опухолевого узла.

Во всех случаях обнаружена специфическая для СК транслокация *ETV6—NTRK3*. Этот вид реаранжировки наиболее распространен и встречается, по данным исследований, более чем в 95–98% случаев СК слюнной железы, что может быть использовано для подтверждения диагноза в сложных ситуациях. Однако в отдельных работах показано, что реаранжировка *ETV6—NTRK3* не является единственно возможной для СК, но в качестве партнеров у гена *ETV6* могут выступать также гены *RET* и *MET* [10, 11]. В связи с этим молекулярно-генетическое тестирование имеет не только диагностическое значение, но и предиктивное, так как эффективность существующих таргетных препаратов (энтрактиниб и ларотрактениб) была продемонстрирована только в отношении фьюженос с *NTRK*.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Skalova A, Vanecek T, Sima R, Laco J, Weinreb I, Perez-Ordóñez B, Starek I, Geierova M, Simpson RH, Passador-Santos F, Ryska A, Leivo I, Kinkor Z, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the *ETV6-NTRK3* fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(5):599-608. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d9efcc>
- Stephen RK, Thomas VNB, Richard Z. Juvenile secretory carcinoma of the breast. *J Pediatr Surg*. 1985;20(4):368-371. [https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(85\)80221-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(85)80221-9)
- World Health Organization Classification of head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2017. <https://doi.org/10.1177/014556130608500201>
- Skalova A, Vanecek T, Simpson RH, Laco J, Majewska H, Banneckova M, Steiner P, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: molecular analysis of 25 *ETV6* gene rearranged tumors with lack of detection of classical *ETV6-NTRK3* fusion transcript by standard RT-PCR: report of 4 cases harboring *ETV6-X* gene fusion. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):3-13. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000537>
- Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, Nathanson M, Doebele RC, Farago AF, Pappo AS, Turpin B, Dowlati A, Brose MS, Mascarenhas L, Federman N, et al. Efficacy of larotrectinib in *TRK* fusion—positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal714448>
- James PS, Linkov I, Rosado A, Mullaney K, Rosen EY, Frosina D, Jungbluth AA, Zehir A, Benayed R., Drilon A, Hyman DM, Ladanyi M, Sireci AN, Hechtman AF. *NTRK* fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol*. 2020;33:38-46. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0324-7>
- Poorten VV, Triantafyllou A, Thompson LDR, Bishop J, Hauben E, Hunt J, Skalova A, Stenman G, Takes RP, Gnepp DR, Hellquist H, Wenig B, Bell D, Rinaldo A, Ferlito A. Salivary acinic cell carcinoma: reappraisal and update. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(11):3511-3531. <https://doi.org/10.1007/s00405-015-3855-7>
- Skalova A, Vanecek T, Majewska H, Laco J, Grossmann P, Simpson RH, Hauer L, Andrie P, Hosticka L, Branžovský J, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the *ETV6-NTRK3* gene fusion and analysis of *TP53*,  $\beta$ -catenin, *EGFR*, and *CCND1* genes. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(1):23-33. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000088>
- Cipriani NA, Blair EA, Finkle J, Kraninger JL, Straus CM, Villafior VM, Ginat DT. Salivary gland secretory carcinoma with high-grade transformation, *CDKN2A/B* loss, distant metastasis, and lack of sustained response to crizotinib. *Int J Surg Pathol*. 2017;25(7):613-618. <https://doi.org/10.1177/1066896917709350>
- Na K, Hernandez-Prera JC, Lim JY, Woo HY, Yoon SO. Characterization of novel genetic alterations in salivary gland secretory carcinoma. *Mod Pathol*. 2020;33(4):541-550. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0427-1>
- Rooper LM, Karantanos T, Ning Y, Bishop JA, Gordon SW, Kang H. Salivary secretory carcinoma with a novel *ETV6-MET* fusion: expanding the molecular spectrum of a recently described entity. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(8):1121-1126. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001065>

Поступила 24.03.2020

Received 24.03.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Заключение

Представленный разбор клинических случаев секреторной карциномы слюнной железы и краткий обзор литературы отражают важное значение диагностических навыков врача-морфолога в выявлении среди общего потока пациентов с солидными опухолями специфической группы больных, у которых наиболее высока вероятность обнаружения реаранжировки гена *NTRK*, что ассоциировано с возможностью применения таргетной терапии.

## Благодарность

Коллектив авторов выражает благодарность Анне Александровне Чанкиной за помощь в интерпретации цитологических характеристик опухоли у пациентов с секреторной карциномой слюнной железы и Константину Ивановичу Чудакову за помощь в сборе клинических данных пациентов.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Н.В. Швед, И.Л. Плакса

Сбор и обработка материала — Н.В. Швед, А.С. Бучака

Написание текста — И.Л. Плакса, А.С. Бучака

Редактирование — Н.А. Савелов, Р.В. Деев

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**The authors declare no conflicts of interest.**

## Значение выявления экспрессии белков TRK и перестроек в гене *NTRK3* в секреторной карциноме молочной железы

© О.А. КУЗНЕЦОВА<sup>1</sup>, Ю.Ю. АНДРЕЕВА<sup>1</sup>, Л.Э. ЗАВАЛИШИНА<sup>1</sup>, И.А. ДЕМИДОВА<sup>2</sup>, М.Б. ГИКАЛО<sup>2</sup>, Г.А. ФРАНК<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Москвы «Московская городская онкологическая больница №62» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Секреторная карцинома молочной железы — редкая злокачественная опухоль с относительно благоприятным прогнозом и индолентным течением. Несмотря на это, она может привести к смерти или снизить качество жизни. Такие достижения современной химиотерапии, как ингибиторы тирозинкиназы, способны не только продлить жизнь, но и сократить объемы оперативного вмешательства. Однако эта терапия показана не каждому пациенту, а только тем, у кого обнаружена транслокация гена *NTRK3*.

**Ключевые слова:** секреторная карцинома молочной железы, *NTRK*.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кузнецова О.А. — <https://orcid.org/0000-0002-9721-6355>; e-mail: aolga@list.ru\*

Андреева Ю.Ю. — <https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Завалишина Л.Э. — <https://orcid.org/0000-0002-0677-7991>

Демидова И.А. — <https://orcid.org/0000-0003-4971-9852>

Гикало М.Б. — e-mail: m.gikalo@gmail.com

Франк Г.А. — <https://orcid.org/0000-0002-3719-5388>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Кузнецова О.А., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э., Демидова И.А., Гикало М.Б., Франк Г.А. Значение выявления экспрессии белков TRK и перестроек в гене *NTRK3* в секреторной карциноме молочной железы. *Архив патологии*. 2020;82(4):53-57. <https://doi.org/10.17116/patol20208204153>

## Importance of detecting TRK protein expression and rearrangements in *NTRK3* gene in secretory carcinoma of the breast

© О.А. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, YU.YU. ANDREEVA<sup>1</sup>, L.E. ZAVALISHINA<sup>1</sup>, I.A. DEMIDOVA<sup>2</sup>, M.B. GIKALO<sup>2</sup>, G.A. FRANK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Moscow City Oncology Hospital No. 62, Moscow, Russia

### ABSTRACT

Secretory carcinoma of the breast is a rare malignant tumor with a relatively favorable prognosis and indolent course. Despite this, it can lead to death or reduce the quality of life. Advances in modern chemotherapy, such as tyrosine kinase inhibitors, can not only extend life, but also reduce the volume of surgery. However, this therapy is not applicable for every patient, but only for those with translocation of the *NTRK3* gene.

**Keywords:** secretory carcinoma of the breast, *NTRK*.

### INFORMATION ABOUT AUTHORS

Kuznetsova O.A. — <https://orcid.org/0000-0002-9721-6355>

Andreeva Yu.Yu. — <https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Zavalishina L.E. — <https://orcid.org/0000-0002-0677-7991>

Demidova I.A. — <https://orcid.org/0000-0003-4971-9852>

Gikalo M.B. — e-mail: m.gikalo@gmail.com

Frank G.A. — <https://orcid.org/0000-0002-3719-5388>

### TO CITE THIS ARTICLE:

Kuznetsova OA, Andreeva YuYu, Zavalishina LE, Demidova IA, Gikalo MB, Frank GA. Importance of detecting TRK protein expression and rearrangements in *NTRK3* gene in secretory carcinoma of the breast. *Archive of Pathology = Arkhir patologii*. 2020;82(4):53-57. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204153>

Секреторная карцинома молочной железы — это инвазивный рак, состоящий из эпителиальных клеток с внутриклеточными секреторными вакуолями и внеклеточных эозинофильных пузырьков с секретом, имеющих различное строение. Опухоль может локализоваться в любом сегменте молочной железы и, как правило, характеризуется медленным ростом, а сам узел безболезненный и смещается относительно окружающих тканей, иногда в опухолевый процесс вовлекается сосок [1]. При лучевых исследованиях выявляется опухолевое образование с четким контуром, дольчатого строения, больше напоминающее доброкачественную опухоль [2].

Этот вид опухоли очень редкий и встречается менее чем в 0,05% всех инвазивных карцином молочной железы, чаще выявляется у женщин, но может быть у мужчин и у подростков. Возраст больных колеблется от 3 до 87 лет, средний возраст пациентов 53 года [3, 4].

При макроскопическом исследовании обычно диагностируется одиночный узел с четкими контурами, сероватой или желтоватой поверхностью на разрезе. Реже выявляются множественные очаги. Средний диаметр описанных образований — 2 см, но размеры варьируют от 0,5 до 16 см.

Секреторные карциномы содержат полигональные клетки с эозинофильной гранулированной или вакуолизированной цитоплазмой, круглыми и овальными ядрами. Опухоль может формировать микрокистозные, ячеистые, солидные, тубулярные и папиллярные структуры. Микрокистозные участки могут имитировать тиреоидные фолликулы. Большинство секреторных карцином смешанного строения. Ядерный полиморфизм, как правило, слабый или умеренный, митотическая активность низкая. Опухоль обычно имеет 1-ю или 2-ю градацию по Ноттингемской системе, high-grade-карциномы встречаются исключительно редко.

Клетки секреторной карциномы при иммуногистохимическом исследовании обычно диффузно экспрессируют СЕА, S100, маммаглобин, SOX10, MUC4. В большинстве из них выявляются базальные маркеры (CK5/6, EGFR), хотя и фокально. GATA3, CK8/18, CD117 и виментин также могут быть позитивными. Хотя подавляющая часть этих карцином имеет тройной негативный фенотип (негативные ER, PR, HER2), однако уровень экспрессии Ki-67 часто ниже 20% [3].

Дифференциальный диагноз секреторной карциномы включает инвазивный рак с апокриновой дифференцировкой (обычно андрогенпозитивный), ацинозно-клеточную карциному, столбчато-клеточную карциному с обратной полярностью, кистозную гиперсекретирующую карциному *in situ*.

По данным молекулярно-генетических исследований секреторная карцинома молочной железы часто ассоциируется со слиянием генов *ETV6—NTRK3* [3].

Нейтрофильные тропомиозиновые рецепторы тирозинкиназы (NTRK) — это семейство из трех протоонкогенов, NTRK1, NTRK2 и NTRK3, которое кодирует соответственно 3 белка: TrkA, TrkB и TrkC. В норме эти белки вовлечены в различные биологические процессы, в том числе дифференцировку клеток и приспособляемость к изменению физиологических условий вокруг клетки. В различных опухолях онкогенный процесс вовлекаются различные домены NTRK [5]. Учитывая потенциальную онкогенную активность, перестройки NTRK стали очередной терапевтической мишенью для таргетной терапии [6—10].

Для определения имеющейся перестройки используется ряд диагностических методов: секвенирование нового поколения (NGS), обратнo-транскриптазная полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР), флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) и классическая иммуногистохимия [11, 12].

Безусловно, NGS является одним из самых чувствительных и специфичных тестов и в большинстве случаев будет работать независимо от гена-партнера, определяя все множество различных транслокаций NTRK. Однако методы на основе ДНК-секвенирования могут быть сложными для разработки панели из-за большого размера интронов генов *NTRK*. Помимо этого метод весьма дорогостоящий, требующий времени для проведения, надлежащее оборудование и квалификацию специалистов, что делает его непригодным для использования в качестве скрининга [13].

ПЦР также высокочувствительный метод, при этом более экономичен и не требует значительного времени для выполнения. Недостатком является невозможность выявить перестройки, не заложенные в диагностическую панель, а также необходимость проведения индивидуальной пробы для каждой транслокации [14].

Флюоресцентная гибридизация *in situ* может определять неизвестные транслокации NTRK, однако при этом используются три зонда отдельно для каждого гена *NTRK*, а для известных транслокаций (например, NTRK3—ETV6 при инфантильной фибросаркоме) — специфичные пробы [13]. Анализ может быть выполнен достаточно быстро (в течение 2 дней), хотя и требует специального оборудования для оценки. Основными недостатками метода являются высокая стоимость (необходимо три зонда) и достаточный объем опухолевого материала.

Объективным и доступным методом скрининга может быть иммуногистохимический метод. Обладая сравнительно невысокой специфичностью, метод весьма чувствителен, доступен по стоимости и времени, а также не требует большого объема материала [14]. Антитела к panTRK в отличие от всех описанных выше методов созданы для выявления наличия белков семейства TRK, а не генов в ДНК или РНК опухолевых клеток. В настоящее время для иммуногистохимических исследований чаще всего используется тест VENTANApan-TRK (EPR17341), выявляющий С-концевую область тропомиозин-рецепторной киназы А, В и С, присутствующую в белках дикого и химерного типа. В зависимости от того, какие произошли мутации в клетке, реакция с антителами дает ядерное, перинуклеарное, мембранное, цитоплазматическое окрашивание различной интенсивности или комбинацию вариантов [5]. Это усложняет метод, делает его более субъективным и оставляет ему место только в рамках скрининга [11].

Зачем нужно определять транслокации NTRK? Согласно данным G. Demetri и соавт. [15] применение энтрактиниба (ингибитора TrkA/B/C и ROS1) способно обеспечить частоту объективного ответа 57,4% (95% ДИ 8,0—14,9) при наблюдении пациентов с местно-распространенными и метастатическими опухолями с транслокацией NTRK в течение 15,5 мес. При этом медиана времени без прогрессирования заболевания составила 11,2 мес (95% ДИ 7,1—NR).

Перестройки NTRK чаще всего встречаются в редких опухолях, таких как секреторная карцинома молочной железы, аналог секреторной карциномы слюнной железы (MASK), врожденная инфантильная фибросаркома и врожденная мезобластная нефрома, а также в некоторых других опухолях детского возраста [16]. В ряде исследований показано, что частота встречаемости реаранжировки гена

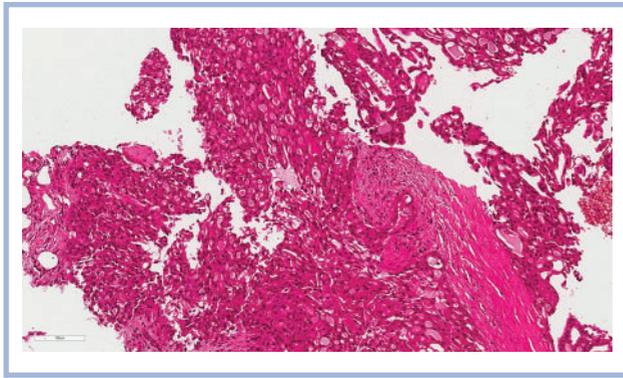


Рис. 1. Секреторная карцинома молочной железы, биопсийный материал,  $\times 10$ .

Fig. 1. Secretory carcinoma of the breast, biopsy material,  $\times 10$ .

*NTRK* в солидных опухолях невысока и составляет в карциномах молочной железы от 0,18% [17]. Однако в некоторых редких опухолях, например секреторной карциноме слюнной железы или в воспалительной миофибробластической опухоли, может встречаться достаточно часто. Это показывает важную роль патолога в выборе пациентов для выявления генетических перестроек в гене *NTRK* на основе морфологического исследования.

### Клинический случай

Для определения тактики лечения в клинику ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава РФ обратилась пациентка К., 51 год, которая в октябре 2019 г. самостоятельно нащупала уплотнение в правой молочной железе, обратилась в региональную больницу, где провели УЗИ, маммографию и *core*-биопсию образования. На основании полученных данных был выставлен диагноз: C50.4 Злокачественное новообразование верхненаружного квадранта молочной железы, рак правой молочной железы, T2N0M0. Стадия IIa. Гистологическое заключение: аденокистозный рак, реакции с антителами к эстрогеновым, прогестероновым рецепторам и HER2 отрицательные, Ki-67 — 7%. Принято решение о проведении операции на первом этапе. По результатам патолого-анатомического исследования операционного материала обнаружен беловатый опухолевый узел с четкими контурами размером 2,5 $\times$ 2,5 $\times$ 2 см, диагноз: инфильтративная карцинома неспецифического типа, G2, pT2N0.

При пересмотре препаратов биопсийного и операционного материала в лаборатории клиники РМАНПО в опухоли выявлены полигональные опухолевые клетки с эозинофильной цитоплазмой, округлыми ядрами и множеством внутри- и внеклеточных вакуолей, заполненных слизью. Клетки формировали преимущественно микрокисты и фолликулоподобные структуры, мелкие солидные скопления (рис. 1, 2). Некоторая деформация опухоли в биопсии диктовала необходимость дифференциального диагноза с аденокистозной карциномой, однако клетки опухоли не были базалоидными и не формировали розетковидных структур. Заключение: секреторная карцинома молочной железы, ICD-O-code — 8502/3, G2, pT2N0, R0, LV10, VI0.

Учитывая последние данные об эффективности энтрактиниба в лечении секреторных карцином молочной железы, пациентке рекомендовано проведение анализа для определения экспрессии белка TRK и наличия мутаций в

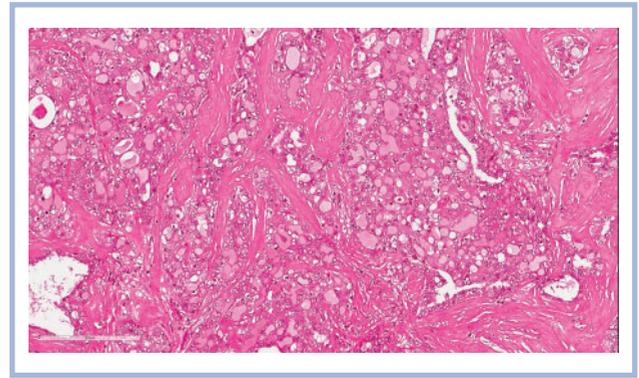


Рис. 2. Секреторная карцинома молочной железы, операционный материал,  $\times 20$ .

Fig. 2. Secretory carcinoma of the breast, surgical material,  $\times 20$ .

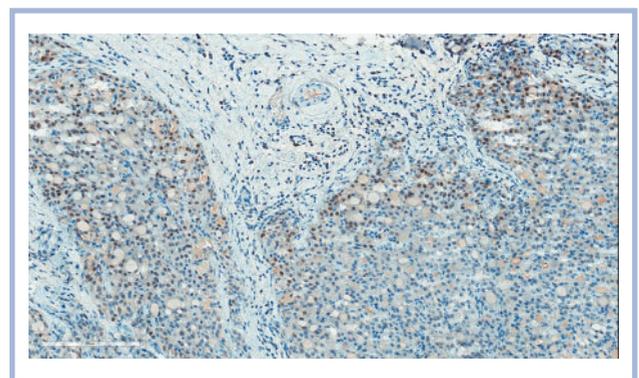
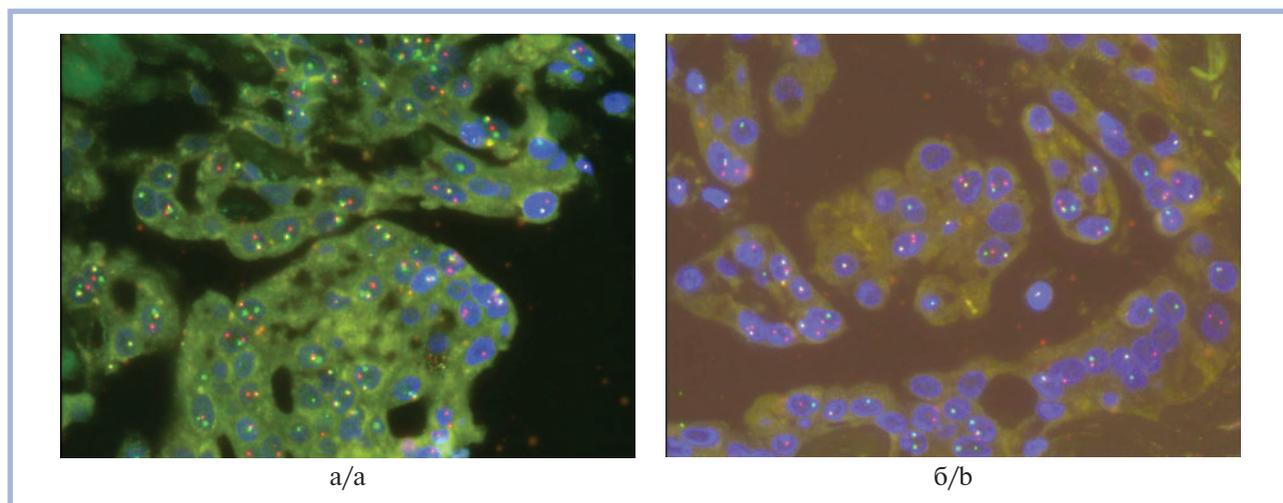


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция с антителами к pan-TRK,  $\times 20$ .

Fig. 3. Immunohistochemical reaction with antibodies to pan-TRK,  $\times 20$ .

генах *NTRK*. Для исследований методом иммуногистохимии были изготовлены срезы толщиной 4 мкм и помещены на положительно заряженные предметные стекла. Иммуногистохимическое исследование выполнено с антителами VENTANA pan-TRK (EPR17341) Assay в иммуностейнере VENTANA Bench Mark ULTRA. Для детекции применялся набор Opti View DAB IHC Detection Kit (VENTANA) по стандартному протоколу, рекомендованному производителем. В качестве контроля использован реагент негативного контроля (Rabbit Monoclonal Negative Control Ig VENTANA) и внутрилабораторный позитивный контроль (ткань аппендикса). Оценивалась реакция различной локализации (ядерная, цитоплазматическая).

Для исследования методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) приготовлены срезы толщиной 3 мкм, которые после депарафинизации и протеолиза гибридизовались с пробой NTRK3 Break Apart FISH Probe Kit (производство компании CytoTest, США) согласно протоколам производителя с незначительными модификациями. Результат гибридизации оценивался после просмотра препарата в флуоресцентном микроскопе Axioimager Z2 (Zeiss, Германия). Исследовался весь препарат, подсчитывалось не менее 100 опухолевых клеток в 4 различных зонах. Признаком перестройки гена *NTRK3* считалось обнаружение более 15% ядер опухолевых клеток с расщепленным сигналом



**Рис. 4. Результаты FISH-исследования перестроек в гене *NTRK3* (а, б).**

Слитные сигналы соответствуют неперестроенному гену, раздельно лежащие сигналы подтверждают транслокацию.

**Fig. 4. FISH studies results of rearrangements in the *NTRK3* gene (a, b).**

The fused signals correspond to the non-rearranged gene; separately lying signals confirm translocation.

(расхождение сигналов более, чем на 2 диаметра наибольшего, красного сигнала) или с отдельно лежащими красными сигналами, соответствующими тирозинкиназному домену исследуемого гена.

Результаты иммуногистохимического исследования и FISH-метода продемонстрировали следующее: на срезах с иммуногистохимическим окрашиванием с антителами VENTANA pan-TRK (EPR17341) Assay обнаружена положительная реакция в ядрах части опухолевых клеток, что оценено как положительный результат (рис. 3). Учитывая специфику иммуногистохимического выявления белков TRK, в лаборатории молекулярной биологии МГОБ №62 было также проведено FISH-исследование, по результатам которого реаранжировка гена *NTRK3* была подтверждена (рис. 4, а, б). При оценке исследуемого образца обнаружено, что 80% опухолевых клеток демонстрируют признаки транслокации гена *NTRK3*. В клетках выявлялся один слитный сигнал, соответствующий неперестроенному гену *NTRK3*, и 1–2 пары расщепленных сигналов, указывающих на наличие перестройки. Таким образом, транслокация исследуемого гена была подтверждена.

## Заключение

Пример данного клинического случая показал необходимость внимательного отношения патолога при рутинном гистологическом исследовании рака молочной железы. Следует всегда помнить о редких морфологических вариантах, имеющих индивидуальный прогноз и чувствительность к терапии. Так, при некоторых вариантах (тубулярная и крибриформная карцинома) можно ограничиться только хирургическим лечением на начальных стадиях заболевания. При выявлении нейроэндокринной дифференцировки возможна коррекция лекарственной терапии. Устанавливая секреторный рак молочной железы, необходимо провести первичное иммуногистохимическое исследование и обязательно направить материал для подтверждения транслокации гена *NTRK3* на молекулярно-генетическое исследование. Это позволит пациентам с таким диагнозом получить адекватное таргетное лечение.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Li D, Xiao X, Yang W, Shui R, Tu X, Lu H, Shiet D. Secretory breast carcinoma: a clinicopathological and immunophenotypic study of 15 cases with a review of the literature. *Mod Pathol*. 2012;25(4):567-575. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.190>
- Mun SH, Ko EY, Han BK, Shin JH, Kim SJ, Cho EY. Secretory carcinoma of the breast: sonographic features. *J Ultrasound Med*. 2008;27(6):947-954. <https://doi.org/10.7863/jum.2008.27.6.947>
- WHO Classification of Tumours series. vol. 2. Breast Tumours. 5th ed. IARC; 2019.
- Horowitz DP, Sharma CS, Connolly E, Gidea-Addeo D, Deutsch I. Secretory carcinoma of the breast: results from the survival, epidemiology and end results database. *Breast*. 2012;21(3):350-353. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2012.02.013>
- Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, Drilon A, Zehir A, Frosina D, Arcila ME, Dogan S, Klimstra DS, Ladanyi M, Jungbluth AA. Pan-Trk immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1547-1551. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000911>
- Khotskaya YB, Holla VR, Farago AF, Mills Shaw KR, Meric-Bernstam F, Hong DS. Targeting TRK family proteins in cancer. *Pharmacol Ther*. 2017;173:58-66. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.006>
- Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open*. 2016;1(2):e000023. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2015-000023>

8. Davis JL, Lockwood CM, Albert CM, Tsuchiya K, Hawkins DS, Rudzinski ER. Infantile NTRK-associated mesenchymal tumors. *Pediatr Dev Pathol.* 2018;21(1):68-78. <https://doi.org/10.1177/1093526617712639>
9. Pavlick D, Schrock AB, Malicki D, Stephens PJ, Kuo DJ, Ahn H, Turpin B, Allen JM, Rosenzweig M, Badizadegan K, Ross JS, Miller VA, Wong V, Ali SM. Identification of NTRK fusions in pediatric mesenchymal tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(8):e26433. <https://doi.org/10.1002/pbc.26433>
10. Prasad ML, Vyas M, Horne MJ, Virk RK, Morotti R, Liu Z, Tallini G, Nikiforova MN, Christison-Lagay ER, Udelsman R, Dinauer CA, Nikiforov Y. E.NTRK fusion oncogenes in pediatric papillary thyroid carcinoma in northeast United States. *Cancer.* 2016;122(7):1097-1107. <https://doi.org/10.1002/cncr.29887>
11. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol.* 2019;32(1):147-153. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0118-3>
12. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, Dietel M, Elmberger G, Kerr K, López-Ríos F, Marchetti A, Öz B, Pauwels P, Penault-Llorca F, Rossi G, Ryška A, Thunnissen E. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch.* 2016;469(5):489-503. <https://doi.org/10.1007/s00428-016-2000-3>
13. Church AJ, Calicchio ML, Nardi V, Skalova A, Pinto A, Dillon DA, Gomez-Fernandez CR, Manoj N, Haimes JD, Stahl JA, Dela Cruz FS, Tannenbaum-Dvir S, Glade-Bender JL, Kung AL, DuBois SG, et al. Recurrent EML4-NTRK3 fusions in infantile fibrosarcoma and congenital mesoblastic nephroma suggest a revised testing strategy. *Mod Pathol.* 2018;31(3):463-473. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.127>
14. Bourgeois JM, Knezevich SR, Mathers JA, Sorensen PH. Molecular detection of the ETV6-NTRK3 gene fusion differentiates congenital fibrosarcoma from other childhood spindle cell tumors. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(7):937-946. <https://doi.org/10.1097/00000478-200007000-00005>
15. Demetri GD, Paz-Ares L, Farago AF, Liu SV, Chawla SP, Tosi D, Kim ES, Blakely CM, Krauss JC, Sigal D, Bazhenova L, John T, Besse B, Wolf J, Seto T, et al. Efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive tumours: Pooled analysis of STARTRK-2, STARTRK-1, and ALKA-372-001. *Ann Oncol.* 2018;29(suppl 9):175. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy483.003>
16. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, Nathanson M, Doebele RC, Farago AF, Pappo AS, Turpin B, Dowlati A, Brose MS, Mascarenhas L, Federman N, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med.* 2018;378(8):731-739. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1714448>
17. Okamura R, Boichard A, Kato S, Sicklick JK, Bazhenova L, Kurzrock R. Analysis of NTRK alterations in pan-cancer adult and pediatric malignancies: implications for NTRK-targeted therapeutics. *JCO Precis. Oncol.* 2018. <https://doi.org/10.1200/PO.18.00183>

Поступила 25.03.2020

Received 25.03.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание

© Н.В. ДАНИЛОВА<sup>1</sup>, Н.А. ОЛЕЙНИКОВА<sup>1</sup>, П.Г. МАЛЬКОВ<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Медицинский научно-образовательный центр, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Классификация эпителиальных новообразований желудка 2019 г. частично изменена по сравнению с изданием 2010 г.: выделены новые гистологические подтипы дисплазий (зубчатая дисплазия, дисплазия желудочных ямок/крипт), изменилась структура классификации доброкачественных новообразований (термин аденоматозный полип вновь вводится в обращение и представляет собой группу доброкачественных опухолей, ранее относимых к аденомам желудочного типа), раздел злокачественных эпителиальных опухолей расширен за счет карциномы из париетальных клеток, микропапиллярной и мукоэпидермоидной карцином, рака из клеток Панета. Факторы риска рака желудка разделены на две группы в зависимости от уровня доказательности их участия в канцерогенезе. Наиболее значимыми признаны: выявленная инфекция *Helicobacter pylori*, работа, связанная с производством резины, курение табака, рентгеновское и гамма-излучение. Изменены подходы к градации раков желудка по степени дифференцировки: подчеркивается предпочтительное использование двухступенчатой градации (low grade/ high grade). Нововведения также коснулись стадирования рака желудка. Раздел, посвященный нейроэндокринным опухолям, существенных изменений не претерпел. В целом новая классификация содержит более подробные данные по каждому из разделов, однако она не является интуитивно понятной. Пункты классификационной таблицы не соответствуют названиям разделов в тексте, что затрудняет понимание структуры и навигацию.

**Ключевые слова:** классификация ВОЗ, дисплазия/интраэпителиальная неоплазия желудка, рак желудка, аденоматозный полип, аденома желудка кишечного типа, стадирование рака желудка, градация рака желудка, молекулярная классификация рака желудка.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Данилова Н.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Олейникова Н.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Мальков П.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

### TO CITE THIS ARTICLE:

Данилова Н.В., Олейникова Н.А., Мальков П.Г. Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 года, 5-е издание. *Архив патологии*. 2020;82(4):58–69. <https://doi.org/10.17116/patol20208204158>

## 2019 WHO classification of gastric epithelial tumors, 5<sup>th</sup> edition

© N.V. DANILOVA<sup>1</sup>, N.A. OLEYNIKOVA<sup>1</sup>, P.G. MALKOV<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

### ABSTRACT

The WHO classification of gastric epithelial neoplasms of 2019 is partially changed compared to the previous (2010) edition: new histological subtypes of dysplasia (serrated dysplasia, gastric pit/crypt dysplasia) have been introduced, the classification structure of benign neoplasms has changed (the term “adenomatous polyp” is reintroduced and represents a group of benign tumors, previously referred to as adenomas of gastric type), the section of malignant epithelial tumors expanded due to parietal cell carcinoma, micropapillary and mucoepidermoid carcinomas, Paneth cell carcinoma. Risk factors for gastric cancer are divided into two groups depending on the level of evidence of their involvement in carcinogenesis. The most significant risk factors are *Helicobacter pylori* infection, rubber manufacturing industry, tobacco smoking, X-ray and gamma radiation. The approaches to the grading of gastric carcinomas have been changed. Grading is preferably performed using a two-tiered system (low grade/high grade). Changes also affected the staging of gastric cancer. The section on neuroendocrine tumors has not undergone significant changes. In general, the new WHO classification contains more detailed data for each of the sections, however, it is not intuitive. The points in the classification table do not correspond to the names of sections in the text, which makes it difficult to understand the structure and search for the necessary section.

**Keywords:** WHO classification, gastric dysplasia/intraepithelial neoplasia, gastric carcinoma, adenomatous polyp, intestinal-type gastric adenoma, staging of gastric cancer, grading of gastric carcinomas, gastric cancer molecular classification.

## INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Danilova N.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>Oleynikova N.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>Malkov P.G. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

## TO CITE THIS ARTICLE:

Danilova NV, Oleynikova NA, Malkov PG. 2019 WHO classification of gastric epithelial tumors, 5<sup>th</sup> edition. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):58–69. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204158>

В июле 2018 г. в Лионе состоялось заседание рабочей группы по опухолям пищеварительной системы под эгидой Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC). В результате классификация опухолей была пересмотрена и издана в 2019 г. в составе серии «WHO Classification of Tumors», 5-е издание [1]. Следует отметить, что разделы, посвященные отдельным локализациям, включают в себя только эпителиальные опухоли. Мезенхимальные опухоли и лимфомы представлены в виде отдельных глав. Другой особенностью новой классификации является наличие кодов классификации МКБ-11, которая официально вводится в России с 01.01.21, и отдельной главы, посвященной генетическим опухолевым синдромам желудочно-кишечного тракта. Разделы классификации 2019 г. (табл. 1) выглядят более структурированными, в каждый раздел добавлена чрезвычайно важная информация о необходимых и желательных диагностических критериях каждой конкретной опухоли, что упрощает работу с изданием для практического врача.

В 5-м издании классификации значительно увеличены разделы, касающиеся фоновых и предопухолевых поражений, а также доброкачественных эпителиальных опухолей желудка.

К фоновым состояниям относят:

- хронический гастрит,
- атрофию и кишечную метаплазию,
- полипы фундальных желез,
- гиперпластические полипы желудка.

Большое внимание уделяется гастриту, вызванному *Helicobacter pylori*, стадированию атрофических изменений по системе OLGA [2–4], а также различным видам кишечной метаплазии.

Предопухолевые изменения слизистой оболочки желудка (дисплазия /железистая интраэпителиальная неоплазия) определены как неопластические изменения эпителия слизистой оболочки без признаков стромальной инвазии. Наиболее часто дисплазия встречается в антруме, однако может наблюдаться в любых отделах желудка [5]. В 5-м издании, как и в 4-м, выделяется два основных вида дисплазии: кишечного и фовеолярного (желудочного) типа. При этом в 5-м издании выделяют также подтипы дисплазий желудка: зубчатую дисплазию высокой степени, зубчатую дисплазию низкой степени, дисплазию желудочных ямок/крипт. Однако, несмотря на то что эти подтипы вынесены в классификационную таблицу, в тексте обозначено, что их клиническое значение определено нечетко и приводятся крайне короткие описания. Таким образом, решение составителей классификации о внесении редких подтипов дисплазии с неясной клинической значимостью в основную классификационную таблицу остается труднообъяснимым.

Дисплазия/железистая интраэпителиальная неоплазия желудка может представлять собой плоский, втянутый

или полиповидный участок поражения слизистой оболочки. Градация дисплазии желудка предусматривает выделение дисплазии низкой степени (low grade) и дисплазии высокой степени (high grade) [6, 7].

*Дисплазия кишечного типа* описывается как очаг, состоящий из тубулярных, тубулярно-ворсинчатых или ворсинчатых структур, выстланных высоким цилиндрическим эпителием с увеличенными, удлинненными, гиперхромными ядрами, расположенными в эпителиальном пласте в несколько рядов. Часто встречается терминальная дифференцировка в виде наличия бокаловидных или нейроэндокринных клеток, иногда клеток Панета. Выявляется экспрессия MUC2, CD10, CDX2 [8].

*Дисплазия фовеолярного типа* описывается как очаг из тубулярно-ворсинчатых и/или зубчатых железистых структур, выстланных кубическим или низким цилиндрическим эпителием, напоминающим фовеолярный эпителий. Ядра круглые или овальные, с четко различимыми ядрышками. Цитоплазма клеток бледно-эозинофильная. Выявляется положительное иммуногистохимическое окрашивание с маркерами MUC5AC, MUC6.

*Дисплазия желудочных ямок/крипт*. В оригинальном тексте классификации употреблен термин «ямки/крипты», в связи с чем обращаем внимание, что использование термина «крипты» для слизистой оболочки желудка не соответствует международной гистологической номенклатуре. Такой тип дисплазии наблюдается в базальных отделах желудочных ямок, где железистые структуры демонстрируют созревание до поверхностных эпителиальных клеток. В 49–72% случаев встречается по периферии традиционной неоплазии и считается независимым предиктором прогрессии в инвазивный рак [9], однако в тексте классификации не указано, чем она отличается от дисплазии фовеолярного типа.

*Зубчатая дисплазия* локализуется только в желудочных ямках, характеризуется наличием микропапиллярных структур, экспрессирующих MUC5AC. Подобные гистологические изменения в литературе иногда называют зубчатой аденомой желудка [10].

Классификация доброкачественных эпителиальных опухолей значительно изменена. Если ранее понятия «аденома кишечного типа» и «аденоматозный полип» являлись синонимами, то в новой редакции аденомы кишечного типа стоят особняком, а к аденоматозным полипам относят образования, ранее находившиеся в группе аденом желудочного типа (аденомы фовеолярного типа, аденомы из пилорических желез). К группе аденоматозных полипов в новой классификации также относят аденомы из кислотообразующих желез (oxyntic gland adenoma), не упоминавшиеся в предыдущей классификации. Полипы фундальных желез (fundic gland polyps) более не рассматриваются как истинные опухоли и не имеют кода МКБ-О. Итак, к доброкачественным эпителиальным опухолям относят

Таблица 1. Классификация эпителиальных опухолей желудка

Доброкачественные эпителиальные опухоли и предраковые поражения	
Железистая интраэпителиальная неоплазия, low grade	8148/0
Железистая интраэпителиальная неоплазия, high grade	8148/2
Дисплазия зубчатая, low grade	8213/0*
Дисплазия зубчатая, high grade	8213/2*
Дисплазия кишечного типа	
Дисплазия фовеолярного (желудочного) типа	
Дисплазия желудочных ямок/крипт**	
Аденома кишечного типа, low grade	8144/0*
Аденома кишечного типа, high grade	8144/0*
Аденома желудка кишечного типа, спорадическая	
Аденома желудка кишечного типа, синдромная	
Аденоматозный полип, low grade	8210/0*
Аденоматозный полип, high grade	8210/2*
Злокачественные эпителиальные опухоли	
Аденокарцинома NOS***	8140/3
Тубулярная аденокарцинома	8211/3
Карцинома из париетальных клеток	8214/3
Смешанная аденокарцинома	8255/3
Папиллярная аденокарцинома NOS***	8260/3
Микропапиллярная карцинома NOS***	8265/3
Мукоэпидермоидная карцинома	8430/3
Муцинозная аденокарцинома	8480/3
Перстневидно-клеточная карцинома	8490/3
Дискогезивная карцинома	8490/3
Медуллярная карцинома с лимфоидной стромой	8512/3
Гепатоидная аденокарцинома	8576/3
Карцинома клеток Панета	
Плоскоклеточная карцинома NOS***	8070/3
Аденоплоскоклеточная карцинома	8560/3
Недифференцированная карцинома	8020/3
Крупноклеточная карцинома с рабдоидным фенотипом	8014/3
Плеоморфная карцинома	8022/3
Саркоматоидная карцинома	8033/3
Карцинома с остеокластоподобными гигантскими клетками	8035/3
Гастробластома	8976/1*
Нейроэндокринная опухоль NOS***	8240/3
Нейроэндокринная опухоль, G1	8240/3
Нейроэндокринная опухоль, G2	8249/3
Нейроэндокринная опухоль, G3	8249/3
Гастринома NOS***	8153/3
Соматостатинома NOS***	8156/3
Карциноид из энтерохромаффинных клеток	8241/3
Злокачественный карциноид из ECL-клеток	8242/3
Нейроэндокринная карцинома NOS***	8246/3
Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома	8013/3
Мелкоклеточная нейроэндокринная карцинома	8041/3
Смешанная нейроэндокринная и ненейроэндокринная опухоль (MiNEN)	8154/3

Примечание. \* — новые коды для МКБ-О; \*\* — см. пояснения в тексте статьи; \*\*\* — NOS — not otherwise specified (без дополнительных уточнений).

аденомы кишечного типа и аденоматозные полипы (аденомы фовеолярного типа, аденомы из пилорических желез, аденомы из кислотообразующих желез (oxyntic gland adenoma). Причем каждая из этих категорий может сопровождаться дисплазией высокой или низкой степени. Аденомам кишечного типа соответствуют коды МКБ-О 8144/0 и 8144/2 в зависимости от степени дисплазии, а для всех разновидностей аденоматозных полипов предусмотрены единые коды 8210/0 и 8210/2.

Аденома кишечного типа является третьим по частоте встречаемости образованием среди полиповидных новообразований желудка (после гиперпластических полипов и полипов фундальных желез), локализуется преимущественно в тех отделах желудка, где распространена кишечная метаплазия (в 60% случаев поражаются дистальные отделы желудка) [11]. Пациенты обычно старше 60 лет. Аденомы кишечного типа часто сочетаются с атрофическим гастритом и выраженной кишечной метаплазией. Выделяют два подтипа аденом кишечного типа: спорадические и синдромные. Синдромные аденомы иногда являются одним из проявлений семейного аденоматозного полипоза. Размеры аденом не превышают 2 см. Гистологически аденомы кишечного типа представляют собой совокупность тубулярных структур, выстланных пролиферирующим эпителием с признаками дисплазии, которые формируют полиповидное образование. Аналогичная картина на плоской слизистой оболочке без формирования полиповидного образования обозначается как дисплазия (интраэпителиальная неоплазия). Большинство клеток имеют цилиндрическую форму, вытянутое вдоль длинной оси ядро, присутствуют бокаловидные клетки и клетки Панета. При наличии дисплазии высокой степени аденомы кишечного типа стадияруются как Tis.

Аденома фовеолярного типа — доброкачественная опухоль из фовеолярного эпителия. Локализуется обычно в теле или дне желудка, развиваются без предшествующих фоновых процессов в виде гастрита или атрофии/метаплазии [12]. Спорадические опухоли крайне редки [13], обычно аденомы фовеолярного типа возникают при семейном аденоматозном полипозе и других наследственных синдромах. Гистологически опухоли состоят из сосочковых и тубулярных структур, покрытых цилиндрическим эпителием фовеолярного типа с удлинёнными ядрами и признаками дисплазии (чаще всего низкой степени). Поверхностный эпителий содержит нейтральные (ШИК-позитивные) муцины, что отличает аденому фовеолярного типа от аденомы из пилорических желез. Отмечается выраженная диффузная экспрессия MUC5AC и локальная слабая экспрессия MUC6; реакции с MUC2 и CDX2 отрицательные. Однако ориентироваться при постановке диагноза необходимо в первую очередь на окраску гематоксилином и эозином и ШИК-реакцию, нежели чем на иммуногистохимию.

Аденома из пилорических желез — доброкачественная опухоль из эпителия пилорических желез, возникающая обычно в теле и дне желудка [14]. Большинство таких аденом выявляется у пациентов 60—70 лет и сочетается с атрофией/метаплазией слизистой оболочки дна и тела желудка, вызванной аутоиммунным или *H. pylori*-ассоциированным гастритом [14]. Размер от 0,3 до 10 см (средний — 2 см). Аденомы из пилорических желез представлены плотно лежащими железами пилорического типа, выстланными кубическим или низким цилиндрическим эпителием. Клетки со светлой или слегка эозинофильной цитоплазмой, ядра расположены базально, округлые или овоидные,

со слабо различимыми ядрышками. Поверхностный эпителий не содержит нейтральные (ШИК-позитивные) муцины. В крупных опухолях железы могут быть кистозно-расширены. В 40—50% случаев в аденомах из пилорических желез встречаются дисплазия высокой степени и фокусы аденокарциномы, однако только в 10% случаев наблюдается инвазия в подслизистый слой [15]. Риск прогрессии в аденокарциному увеличивается с размером аденомы, при наличии тубуловорсинчатых структур. В связи с высоким риском прогрессии в рак желудка рекомендовано тотальное удаление образования.

**Аденома из кислотообразующих желез (oxyntic gland adenoma)** — доброкачественная опухоль из главных (зимогенных) и/или обкладочных (париетальных) клеток с высоким риском прогрессии в инвазивный рак. Локализуется в верхней трети желудка, точная частота встречаемости не установлена. Опухоль состоит из тубулярных структур, выстланных цилиндрическими клетками со светлой эозинофильной цитоплазмой, слабой ядерной атипией, похожих на клетки фундальных желез (преимущественно главные). Может находиться на поверхности, однако чаще встречается в интраслизистое расположение. Дифференцировку клеток можно подтвердить иммуногистохимически с помощью окраски на пепсиноген I (главные клетки) и H+/K+ АТФазу (обкладочные клетки) [16]. Иногда в опухоли формируются солидные структуры и анастомозирующие тяжи, что может имитировать картину нейроэндокринной опухоли (NET) [17]. В таких случаях полезно определение экспрессии хромогранина А, в аденомах из кислотообразующих желез желудка данный маркер не выявляется.

Рак желудка занимает в мире 3-е место по уровню смертности [27], несмотря на снижение заболеваемости, ежегодно в мире выявляется около 1 млн новых случаев рака желудка [18, 19]. Наиболее высокий уровень заболеваемости отмечается в центральной и восточной Азии, восточной Европе и Южной Америке [18].

Рак желудка развивается под воздействием комбинации различных неблагоприятных факторов, в 90% случаев является спорадическим и только у 10% пациентов связан с наследственными/врожденными причинами. Факторы риска для развития рака желудка перечислены в табл. 2. В новом издании эти факторы разделены на две группы в зависимости от различного уровня доказательности. Сле-

**Таблица 2. Факторы риска возникновения рака желудка**

Факторы, для которых имеются достаточные доказательства участия в канцерогенезе рака желудка у человека:
— инфекция <i>Helicobacter pylori</i> ;
— участие в производстве резины;
— курение табака;
— рентгеновское и гамма-излучение.
Факторы, для которых имеются ограниченные доказательства участия в канцерогенезе рака желудка у человека:
— асбест (все разновидности);
— инфекция, обусловленная вирусом Эпштейна—Барр;
— неорганические соединения свинца;
— потребляемые внутрь нитраты или нитриты в условиях, которые приводят к эндогенному нитрозированию;
— потребление маринованных овощей (традиционных азиатских);
— потребление соленой рыбы;
— потребление переработанного мяса.

дует отметить, что авторы придают большое значение инфекционным (*H. pylori*, вирус Эпштейна—Барр) и химическим агентам [20], а также особенностям диеты [19, 21—24], в то время как рефлюкс желчи больше не выносится как значимый фактор риска.

В патогенезе рака желудка наиболее важная роль отводится *H. pylori*, а также атрофии слизистой оболочки. Впервые приведены данные двух крупных генетических исследований, в которых авторами были предприняты попытки создания молекулярной классификации рака желудка: TCGA (The Cancer Genome Atlas) и ACRG (Asian Cancer Research Group).

TCGA предложили выделять 4 подтипа рака желудка [25]:

- EBV-позитивный (Epstein-Barr virus positive, EBV);
- подтип с микросателлитной нестабильностью (microsatellite instability, MSI);
- геномно-стабильный (genomic stability, GS);
- хромосомно-нестабильный (chromosome instability, CIN).

Большинство EBV-позитивных опухолей представляли собой карциномы с лимфоидной стромой или лимфоэпителиомаподобные карциномы, демонстрировали мутации *PIK3CA* и *ARID1A*, высокий уровень гиперметилирования генома, амплификацию гена *CD274* (PD-L1) [34—36]. Подтип с микросателлитной нестабильностью характеризовался мутациями или метилированием промоторов генов мисматч-репарации, таких как *MLH1*, и общим высоким уровнем гиперметилирования генома. Геномно-стабильный подтип включал в себя раки преимущественно с диффузной морфологией и характеризовался низкой частотой генетических повреждений. Чаще всего в этом подтипе выявлялись мутации гена *RHOA* или формирование химерных генов, включающих гены семейства *RHO* [37]. К хромосомно-нестабильному подтипу принадлежат преимущественно раки кишечного типа с амплификацией генов рецепторов тирозинкиназ (*ERBB2*, *EGFR*, *MET*, *FGFR2*), выраженной анеуплоидией, высокой долей мутаций гена *TP53* [26—28].

Выделенные TCGA-подтипы имели различия и по клинико-морфологическим показателям. Опухоли подтипа CIN чаще обнаруживались в области кардии и гастроэзофагального перехода, а новообразования EBV-подтипа — в теле и дне желудка. Медиана возраста пациентов с опухолями GS-подтипа была 59 лет, а опухоли, принадлежащие к MSI-подтипу, напротив, диагностировались в более старшем возрасте (медиана оставила 72 года). MSI-подтип чаще выявлялся у женщин, EBV-подтип — у мужчин. Диффузная морфология была более характерна для GS-подтипа (73% опухолей в GS-подтипе). Однако, с точки зрения предиктивной ценности и общей выживаемости, различий между подтипами выявлено не было. Следует отметить, что некоторые подтипы, выделенные TCGA, имеют аналоги в молекулярных классификациях опухолей других локализаций (MSI- и CIN-подтипы колоректального рака) [29].

В исследовании ACRG предложена альтернативная молекулярная классификация рака желудка [30]:

- MSI-подтип;
- микросателлитно-стабильный подтип с признаками эпителиально-мезенхимной трансформации (MSS/EMT-подтип);
- микросателлитно-стабильный подтип TP53+ (MSS/TP53+);
- микросателлитно-стабильный подтип TP53- (MSS/TP53-).

Классификация злокачественных эпителиальных опухолей желудка была переработана и значительно расширена. Например, введены дополнительные гистологические типы карцином, такие как карцинома из париетальных клеток, микропапиллярная и мукоэпидермоидная карциномы, карцинома из клеток Панета, однако описание приведено лишь для микропапиллярной карциномы. Ранее эти подтипы не входили в основную классификацию и рассматривались в разделе редких гистологических вариантов опухолей. Наряду с основной предлагаемой классификацией допускается использование других классификаций (Японской ассоциации рака желудка [31], К. Nakamura и соавт. [32], P. Lauren [33]).

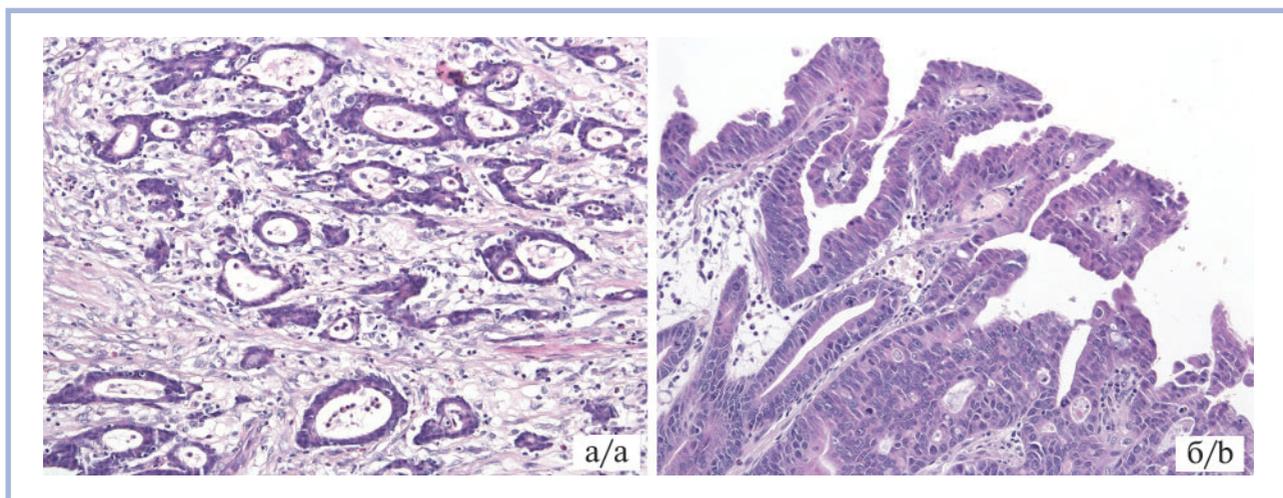
**Тубулярная аденокарцинома** (8211/3) — наиболее распространенный подтип рака желудка — встречается в разных странах в 45–64% случаев [34]. Опухоль построена из расширенных или щелевидных тубул различного диаметра, иногда ветвящихся, образованных цилиндрическими, кубическими или уплощенными атипичными клетками (рис. 1, а). Могут встречаться ацинарные структуры. Тубулярная аденокарцинома относится к кишечному подтипу классификации P. Lauren. Также к тубулярным аденокарциномам следует относить опухоли с преимущественно солидным ростом и едва различимыми тубулами, которые в классификации P. Lauren соответствуют промежуточному подтипу.

**Папиллярная аденокарцинома** (8260/3) — относительно редкий подтип (2,7–9,9% раков желудка) [35]. Как правило, это опухоли с экзофитным характером роста, высокодифференцированные и представленные удлиненными сосочковыми структурами с фиброваскулярной стромой, покрытыми цилиндрическим или кубическим атипичным эпителием (рис. 1, б). Папиллярные аденокарциномы могут содержать тубулярные структуры в небольшом количестве. Несмотря на высокую степень дифференцировки, четкую границу инвазивного края и высокую степень лимфоцитарной инфильтрации, папиллярная аденокарцинома ас-

социирована с большей частотой метастатического поражения печени и худшим прогнозом [36].

**Дискогезивная карцинома** (*poorly cohesive carcinoma, PCC*), включая *перстневидно-клеточную карциному* (8490/3), насчитывает 20–54% случаев раков желудка [36, 37], при этом наибольшая частота встречаемости отмечена в японской популяции [36, 38], относится к диффузному подтипу классификации P. Lauren [33]. В последнее время в некоторых странах отмечено увеличение частоты встречаемости диффузного подтипа рака желудка по сравнению с кишечным [39]. PCC характеризуется наличием изолированных опухолевых клеток, иногда объединенных в небольшие скопления, гнезда, цепочки, без формирования железистоподобных структур. PCC может состоять из перстневидных клеток (перстневидно-клеточный рак) или клеток с другой морфологией (PCC-NOS). Перстневидно-клеточный рак состоит преимущественно или исключительно из перстневидных клеток, которые характеризуются наличием в центре крупной округлой вакуоли с муцином и распластанным по периферии ядром (рис. 2, а, б). Опухоль следует относить к перстневидно-клеточному подтипу, если перстневидные клетки составляют 50% и более площади опухоли. Другие подтипы PCC-NOS могут быть представлены опухолевыми клетками, напоминающими по морфологии лимфоциты или гистиоциты (рис. 2, в); клетками с ярко-эозинофильной цитоплазмой (рис. 2, г); плеоморфными клетками с уродливыми ядрами (рис. 2, д). Иногда наблюдается смесь клеток различных типов, включая перстневидные (рис. 2, е). В строме PCC может наблюдаться выраженный фиброз. Имеются данные о низкой чувствительности перстневидно-клеточного рака к химио- и/или лучевой терапии.

**Муцинозная аденокарцинома** (8480/3) встречается в 2,1–8,1% случаев рака желудка [40]. Опухоль состоит из атипичных эпителиальных структур и экстраклеточного муцина, который должен занимать более 50% площади опухоли. В классификации 2019 г. выделяют два подтипа муциноз-



**Рис. 1.** Тубулярная и папиллярная аденокарциномы желудка.

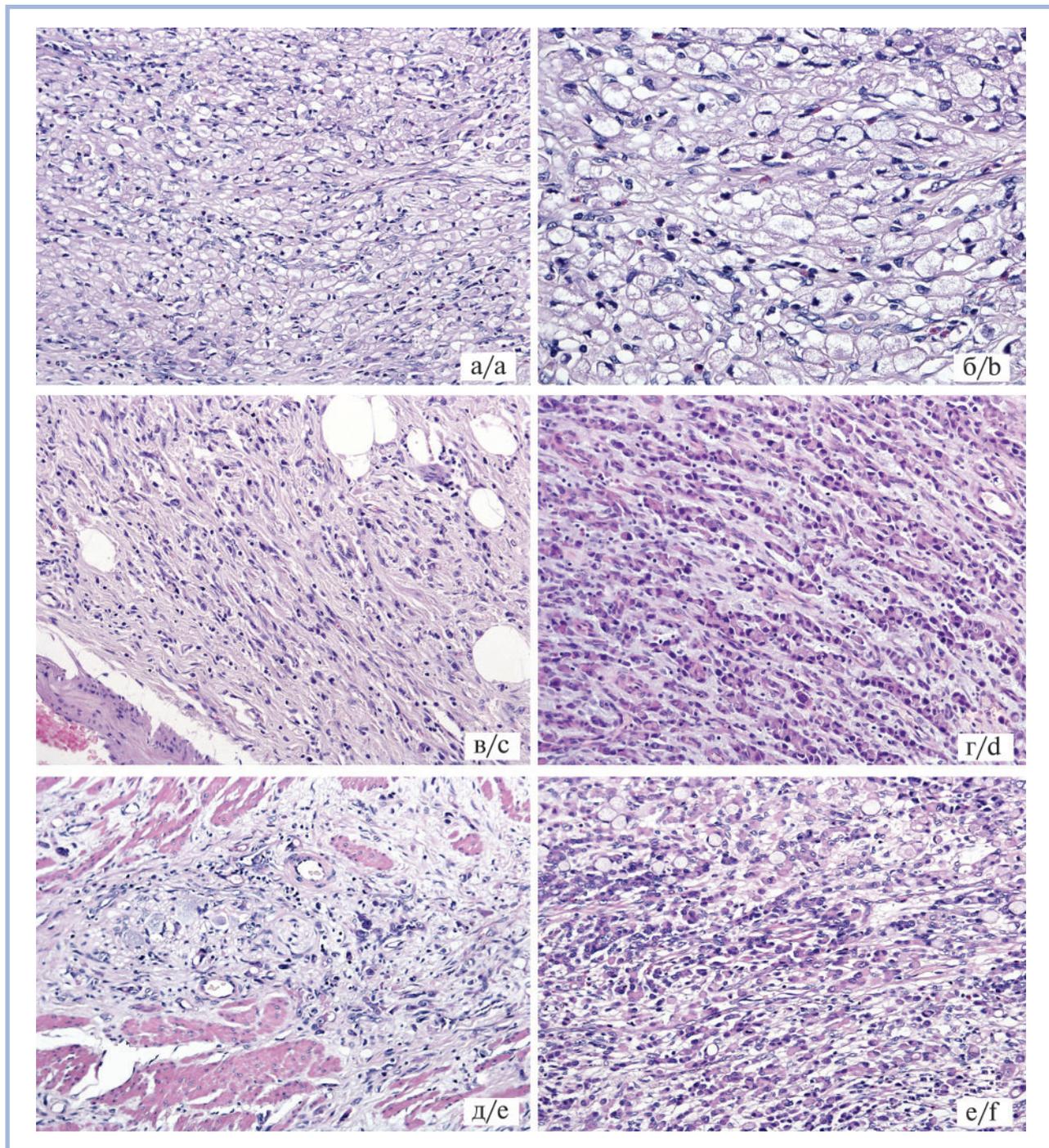
а — тубулярная аденокарцинома желудка: разнокалиберные тубулярные структуры из уплощенных атипичных клеток; б — папиллярная аденокарцинома желудка: удлиненные сосочковые структуры с фиброваскулярной стромой, покрытые цилиндрическим атипичным эпителием; а, б — окраска гематоксилином и эозином, об.  $\times 20$ .

**Fig. 1. Tubular and papillary gastric adenocarcinomas.**

а — tubular gastric adenocarcinoma, composed of tubules of various sizes formed by flattened atypical cells, H&E, lens magn.  $\times 20$ ; б — papillary gastric adenocarcinoma, composed of long epithelial projections scaffolded by central fibrovascular cores, H&E, lens magn.  $\times 20$ .

ной аденокарциномы: 1) опухоль с четкими железистыми или тубулярными структурами из цилиндрического эпителия (рис. 3, а); 2) опухоль с цепочками, гнездами и отдельными клетками (включая перстневидные), окружен-

ные «озерами» слизи (рис. 3, б). Недавний мутационный анализ показал, что мутационный профиль второго типа муцинозной аденокарциномы отличается от мутационного профиля раков кишечного и диффузного типов [41].



**Рис. 2.** Подтипы дискогезивных аденокарцином желудка.

а, б — перстневидно-клеточный рак желудка; в — дискогезивная карцинома из клеток, напоминающих гистиоциты и лимфоциты; г — дискогезивная карцинома из клеток с эозинофильной цитоплазмой; д — дискогезивная карцинома из плеоморфных клеток; е — дискогезивная карцинома, состоящая из клеток нескольких типов; а — в — окраска гематоксилином и эозином; а, в — об.  $\times 20$ , б — об.  $\times 40$ .

**Fig. 2.** Variants of gastric poorly cohesive carcinomas.

а, б — singlet ring carcinoma, H & E, (а — lens magn.  $\times 20$ , б — lens magn.  $\times 40$ ); в — PCC, composed of neoplastic cells resembling histiocytes or lymphocytes, H & E, lens magn.  $\times 20$ ; д — PCC, composed of neoplastic cells with eosinophilic cytoplasm, H&E, lens magn.  $\times 20$ ; е — PCC, pleomorphic, H & E, lens magn.  $\times 20$ ; ф — PCC, composed of a mixture of the different cell types, H & E, lens magn.  $\times 20$ .

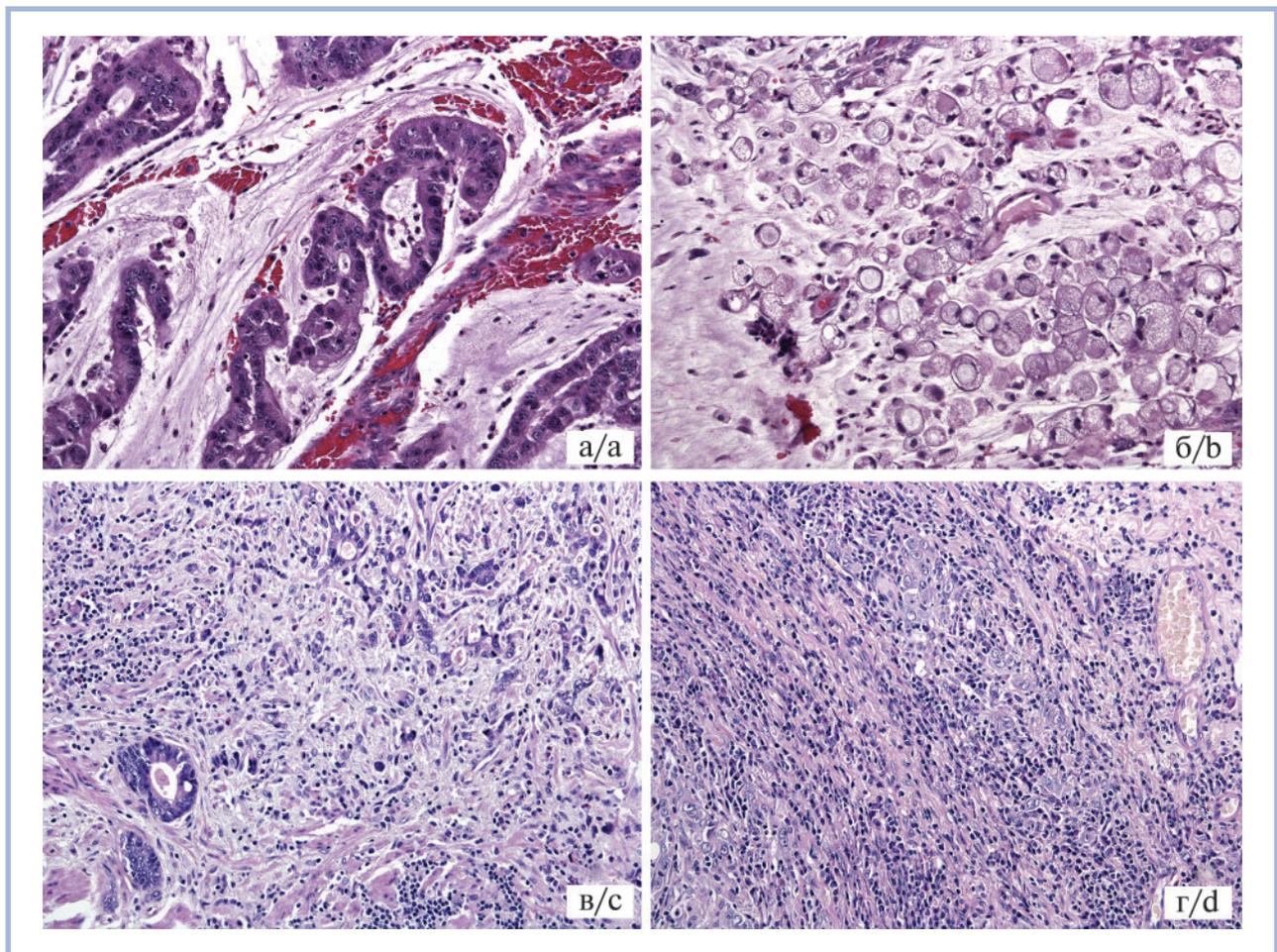
Смешанная аденокарцинома встречается в 6—22% случаев [49, 50, 57] и характеризуется наличием двух или более гистологических компонентов, например, железистого (тубулярного/папиллярного) и перстневидно-клеточного (рис. 3, в). Смешанные карциномы клональны, т.е. не являются простым смешением двух независимых аденокарцином [42], а вариабельность фенотипа, возможно, связана с соматической мутацией гена E-кадгерина (*CDH1*) в дискогезивном компоненте опухоли [43]. Прогностические характеристики смешанных аденокарцином хуже, чем аналогичных «чистых» типов опухолей (однородного строения) [42].

Карцинома с лимфоидной стромой (8512/3) насчитывает 1—7% от всех случаев рака желудка [44]. Морфологически представляет собой солидные поля, трабекулы, плохо сформированные тубулы или синцитиальные структуры из полигональных клеток, расположенные в строме, густо инфильтрированной лимфоцитами (рис. 3, г) [45]. Определяются многочисленные интраэпителиальные лимфоци-

ты. Локализуются чаще в проксимальной части желудка. Количество EBV-позитивных раков в данной группе чрезвычайно высоко и составляет от 22,5 до 100% [44], причем наиболее высокие частоты (более 80%) выявлены при помощи EBER *in situ*-гибридизации [46].

Гепатоидная аденокарцинома (8576/3), крайне редко встречающаяся опухоль (0,3—2%), состоит преимущественно из крупных полигональных клеток с эозинофильной цитоплазмой, напоминающих гепатоциты. Иммуногистохимически в цитоплазме клеток можно обнаружить AFP, SALL4, claudin-6, glypican-3, а при гистологическом исследовании иногда выявляются скопления желчи. SALL4 и claudin-6 полезны для дифференциальной диагностики гепатоидной аденокарциномы и гепатоцеллюлярного рака [47].

Микропапиллярная аденокарцинома (8265/3) характеризуется наличием мелких кластеров опухолевых клеток, похожих на ложные сосочки, с инвертированной полярно-



**Рис. 3. Муцинозный и смешанный раки желудка, карцинома с лимфоидной стромой.**

а — муцинозный рак желудка 1-го типа: четкие железистые структуры, окруженные слизью; б — муцинозный рак желудка 2-го типа: отдельные опухолевые клетки, окруженные «озерами» слизи; в — смешанная карцинома желудка: сочетание тубулярных структур и дискогезивного компонента; г — карцинома с лимфоидной стромой: синцитиальные структуры из полигональных резко атипичных клеток, выраженная инфильтрация стромы лимфоцитами; а—г — окраска гематоксилином и эозином, об. ×20.

**Fig. 3. Mucinous and mixed carcinomas, carcinoma with lymphoid stroma.**

а — mucinous carcinoma, type 1 — recognizable glandular structures with interstitial mucin, H & E, lens magn. ×20; б — mucinous carcinoma, type 2 — single tumor cells, surrounded by mucin, H & E, lens magn. ×20; в — mixed gastric carcinoma — combination of tubular and poorly cohesive components, H & E, lens magn. ×20; д — carcinoma with lymphoid stroma — syncytia of polygonal highly atypical cells, embedded within a prominent stromal lymphocytic infiltrate, H & E, lens magn. ×20.

стью, окруженных пустыми стромальными пространствами [48]. «Чистые» микропапиллярные карциномы встречаются крайне редко. Обычно микропапиллярный компонент входит в состав смешанных карцином, занимая от 10 до 90% площади опухоли. Наличие микропапиллярного компонента ухудшает прогноз [49].

Аденокарцинома из фундальных желез предположительно происходит из аденомы фундальных желез и насчитывает 1% ранних раков желудка [50]. Опухоль растет медленно, в 60% случаев наблюдается инвазия в подслизистый слой стенки желудка [51], лимфогенные метастазы крайне редки.

К редким подтипам рака желудка относят мукоэпидермоидную карциному [52], карциному из клеток Панета [53] и карциному из париетальных клеток [54].

Изменились подходы к градации аденокарцином желудка. Если в 4-м издании классификации более предпочтительным считалось разделение на 3 степени дифференцировки и лишь допускалось разделение на 2 степени (low grade и high grade), то в нынешней классификации подчеркивается предпочтительное использование двухступенчатой градации. При этом отмечено, что градации low grade и high grade применимы только к тубулярному и папиллярному подтипам рака желудка. Высокодифференцированные и умеренно-дифференцированные раки (ранее — G1, G2) теперь рекомендуется относить к категории low grade, низкодифференцированные (G3) — high grade.

Прямо подчеркивается, что оценка уровня микросателлитной нестабильности и экспрессии PD-L1 не рекомендуется на данный момент, однако рак желудка рассматривается как перспективное направление для использования таргетной терапии против PD-L1.

Необходимые и желательные диагностические критерии: определение уровня инвазии опухоли по ранее принятой схеме; иммуногистохимическое исследование с антителами к HER2/neu.

Подходы к стадированию рака желудка в новой классификации значительно отличаются от таковых в предыдущем издании. Согласно новым критериям Международного союза по борьбе с раком (UICC) и Американского объединенного комитета по изучению рака (AJCC) 2017 г., ликвидировано понятие *карцинома пищеводно-желудочного перехода (ПЖП)* и исключен соответствующий раздел классификации. Опухоли, вовлекающие ПЖП и распространяющиеся на проксимальную часть желудка, эпицентр которых находится на расстоянии 2 см и менее от пищеводно-желудочного перехода, стадируются как опухоли пищевода. В свою очередь опухоли, эпицентр которых располагается на расстоянии более 2 см от ПЖП, стадируются как новообразования желудка вне зависимости от поражения ПЖП. Все опухоли желудка, не вовлекающие ПЖП, стадируются как новообразования желудка.

В отличие от предыдущих редакций в классификации 2019 г. введены специальные разделы, отдельно описывающие плоскоклеточный, аденоплоскоклеточный и недифференцированный раки желудка, а также гастробластому.

*Первичный плоскоклеточный рак (8070/3)* встречается в желудке крайне редко (0,04—0,07% случаев). В литературе описано менее 100 случаев. Локализуется в любом отделе желудка, однако чаще встречается в верхней трети [55]. Предложено несколько теорий возникновения плоскоклеточного рака, включая плоскоклеточную метаплазию слизистой оболочки желудка, гетеротопию плоского эпителия в желудок и плоскоклеточную метаплазию в других раках

желудка. Гистологически идентичен плоскоклеточному раку пищевода. Прогноз более неблагоприятный по сравнению с аденокарциномой желудка аналогичной стадии [55].

*Аденоплоскоклеточный рак (8560/3) желудка* — первичный диморфный рак желудка (0,25% случаев), состоящий из железистого и плоскоклеточного компонентов, в котором плоскоклеточный составляет не менее 25% площади опухоли [56, 57]. Наиболее часто локализуется в нижней трети желудка [58]. Среди больных преобладают мужчины, средний возраст 60 лет [59, 60]. Для выявления железистого компонента опухоли полезна окраска на муцины; плоскоклеточная дифференцировка определяется окрашиванием антителами к p63/p40. Прогноз неблагоприятный, наиболее значимый фактор прогноза — стадия заболевания.

*Недифференцированная карцинома (8020/3) желудка* — первичная опухоль желудка, состоящая из крайне анаплазированных клеток без специфических цитологических и гистологических признаков какой-либо дифференцировки. Выделяют следующие подтипы недифференцированной карциномы:

- крупноклеточная карцинома с рабдоидным фенотипом (8014/3);
- плеоморфная карцинома (8022/3);
- саркоматоидная карцинома (8033/3);
- карцинома с остеокластоподобными гигантскими клетками (8035/3).

Тенденция к локализации в каком-либо отделе желудка не выявлена, однако тотальное и субтотальное поражение не характерно для недифференцированного рака. В большинстве случаев опухоль имеет большие размеры, представлена язвой или экзофитным образованием. Патогенез недифференцированной карциномы связывают с процессами дедифференцировки обычных аденокарцином, происходящими под влиянием мутаций в гене комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF. Гистологически опухоль чрезвычайно разнообразна, характеризуется наличием клеток различного размера с выраженной анаплазией, наличием двуядерных и многоядерных гигантских опухолевых клеток. В зависимости от подтипа преобладают веретеноклеточный, плеоморфный или остеокластоподобный компоненты. Иммуногистохимическая экспрессия панцитокератина довольно вариабельна. При отсутствии экспрессии цитокератинов полезным маркером оказывается ЕМА. Практически во всех случаях экспрессируется виментин (перинуклеарная, dot-like-реакция) [61, 62]. Дифференциальный диагноз необходимо проводить с анапластическими лимфомами, карциномой желудка с лимфоидной стромой, метастатической меланомой, герминогенными опухолями, ПЕКОмами и другими малодифференцированными опухолями, состоящими из эпителиоидных крупных клеток. Необходимые и желательные диагностические критерии: злокачественное образование без признаков какой-либо дифференцировки, неопределенный результат иммуногистохимического типирования. Прогноз крайне неблагоприятный: большинство пациентов умирает в течение года после постановки диагноза [61, 62].

*Гастробластома (8976/1)* — бифазная опухоль, возникающая в толще собственного мышечного слоя стенки желудка (обычно в антральном отделе) у мальчиков и молодых мужчин. Данная категория выделена в новой классификации впервые и единственная из всех описанных опухолей не имеет кода МКБ-11.

В литературе описано только 12 случаев гастробластом [63—69]. Все опухоли локализовались в собственном

мышечном слое стенки желудка; 8 в антральном отделе, 2 в теле желудка, 1 в дне желудка. Точная локализация опухоли в последнем случае не указана. Опухоли варьировали в размере от 3,8 до 15 см (в среднем 7 см, медиана — 6 см). Возраст пациентов составлял от 9 до 56 лет (в среднем 24 года, медиана — 27 лет). Среди больных было 8 мужчин, 4 женщины [63–69].

Патогенез гастробластом связывают с появлением химерного гена *MALAT1–GLII* [64]. Этот химерный ген встречается в некоторых плексиформных фибромиксомах, также локализующихся в собственном мышечном слое желудка [70]. Поскольку гастробластомы представляют собой бифазные опухоли, так же как и синовиальные саркомы, предпринимались попытки обнаружения химерных генов, содержащих участок *SS18*, однако таковые в гастробластомах не были выявлены [66].

Микроскопически гастробластома состоит из мноморфных веретенновидных клеток и мноморфных эпителиальных клеток, объединенных в солидные комплексы и гнезда. Эпителиальные клетки имеют скудную светлую цитоплазму, округлые ядра с плохо различимыми ядрышками. Стромальный компонент часто характеризуется миксоматозом стромы. Митотическая активность низкая и не имеет прогностического значения. При иммуногистохимическом исследовании эпителиальный компонент опухоли демонстрирует экспрессию разнообразных цитокератинов, очагово-положителен с CD56 и CD10, что отличает его от веретенноклеточного компонента. Маркеры CD117, DOG1, CD34, SMA, desmin, synaptophysin, chromogranin A и S100 в гастробластомах не выявляются.

Необходимые и желательные диагностические критерии гастробластом включают бифазную морфологию (сочетание веретенноклеточного компонента и солидного эпителиального компонента), химерный ген *MALAT1–GLII*.

Описанные в литературе опухоли отличались разными прогностическими характеристиками. Авторы классификации подчеркивают, что число документированных случаев слишком мало для определения надежных прогностических и предиктивных маркеров.

Классификация нейроэндокринных опухолей претерпела незначительные изменения, стала более унифициро-

ванной. Серотонинпродуцирующая нейроэндокринная опухоль и гастринпродуцирующая нейроэндокринная опухоль включены в состав классификационной группы нейроэндокринных опухолей (NET), хотя раньше они рассматривались вне ее. Появилась новая группа смешанных нейроэндокринных и ненейроэндокринных опухолей (MiNEN), включающая ранее существовавшую смешанную аденокарциному с нейроэндокринной карциномой (MANEC), а также смешанную аденокарциному с нейроэндокринной опухолью. Классификация нейроэндокринных опухолей по степени дифференцировки не претерпела изменений.

## Заключение

Несмотря на то что новая классификация опухолей желудка и содержит сравнительно большее количество данных о патогенезе опухолей, предопухолевых и фоновых состояний с явным фокусом на молекулярные механизмы канцерогенеза является более подробной, более структурированной внутри каждого из разделов, она не является интуитивно понятной. Если в предыдущем издании названия глав четко соответствовали пунктам классификации, что облегчало понимание структуры и навигацию, то новое издание лишено этих достоинств. Логика нового издания такова, что для обнаружения того или иного раздела в тексте читатель должен прочитать всю главу, что, безусловно, обогащает его новыми знаниями, однако требует большого количества времени. Данное обстоятельство более не позволяет использовать новую классификацию в качестве справочного издания, где можно было бы быстро найти краткое и четкое описание какого-либо патологического процесса.

*Работа выполнена в рамках госзадания ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова с использованием оборудования, приобретенного по программе развития МГУ им. М.В. Ломоносова до 2020 г.*

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *The WHO Classification of Tumours Editorial Board. Digestive system tumours. WHO classification of tumours vol. 1. 5th ed.* Lyon, France: IARC; 2019.
2. Rugge M, Genta RM. Staging gastritis: an international proposal. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1807–1808. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.09.056>
3. Rugge M, Genta RM. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum Pathol*. 2005;36(3):228–233. <https://doi.org/10.1016/j.humphath.2004.12.008>
4. Rugge M, Meggio A, Pravdelli C, Barbareschi M, Fassan M, Gentilini M, Zorzi M, Pretis G, Graham, DY, Genta RM. Gastritis staging in the endoscopic follow-up for the secondary prevention of gastric cancer: a 5-year prospective study of 1755 patients. *Gut*. 2019;68(1):11–17. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314600>
5. Valente P, Garrido M, Gullo I, Baldaia H, Marques M, Baldaque-Silva F, Lopes J, Carneiro F. Epithelial dysplasia of the stomach with gastric immunophenotype shows features of biological aggressiveness. *Gastric Cancer*. 2015;18(4):720–728. <https://doi.org/10.1007/s10120-014-0416-5>
6. Rugge M, Correa P, Dixon MF, Hattori T, Leandro G, Lewin K, Riddell RH, Sipponen P, Watanabe H. Gastric dysplasia: the Padova international classification. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(2):167–176. <https://doi.org/10.1097/00000478-200002000-00001>
7. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM., Dixon MF, Fenoglio-Preiser CM, Flejou JF, Geboes K, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut*. 2000;47(2):251–255. <https://doi.org/10.1136/gut.47.2.251>
8. Park DY, Srivastava A, Kim GH, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Zukerberg LR, Song GA, Lauwers GY. CDX2 expression in the intestinal-type gastric epithelial neoplasia: frequency and significance. *Mod Pathol*. 2010;23(1):54–61. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2009.135>
9. Agoston AT, Odze RD. Evidence that gastric pit dysplasia-like atypia is a neoplastic precursor lesion. *Hum Pathol*. 2014;45(3):446–455. <https://doi.org/10.1016/j.humphath.2013.10.032>
10. Kwon MJ, Min BH, Lee SM, Park HY, Kang SY, Ha SY, Lee JH, Kim JJ, Park CK, Kim KM. Serrated adenoma of the stomach:

- a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of nine cases. *Histol Histopathol.* 2013;28(4):453-462.
11. Abraham SC, Park SJ, Lee JH, Mugartegui L, Wu TT. Genetic alterations in gastric adenomas of intestinal and foveolar phenotypes. *Mod Pathol.* 2003;16(8):786-795. <https://doi.org/10.1097/01.mp.0000080349.37658.5e>
  12. Abraham SC, Montgomery EA, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Gastric adenomas: intestinal-type and gastric-type adenomas differ in the risk of adenocarcinoma and presence of background mucosal pathology. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(10):1276-1285. <https://doi.org/10.1097/00000478-200210000-00004>
  13. Wood LD, Salaria SN, Cruise MW, Giardiello FM, Montgomery EA. Upper GI tract lesions in familial adenomatous polyposis (FAP): enrichment of pyloric gland adenomas and other gastric and duodenal neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(3):389-393. <https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000146>
  14. Vieth M, Kushima R, Borchard F, Stolte M. Pyloric gland adenoma: a clinico-pathological analysis of 90 cases. *Virchows Arch.* 2003;442(4):317-321. <https://doi.org/10.1007/s00428-002-0750-6>
  15. Choi WT, Brown I, Ushiku T, Yozu M, Setia N, Srivastava A, John-cilla M, Pai RK, Gill RM, Fukayama M, Misdraji J, Lauwers GY. Gastric pyloric gland adenoma: a multicentre clinicopathological study of 67 cases. *Histopathology.* 2018;72(6):1007-1014. <https://doi.org/10.1111/his.13460>
  16. Ueyama H, Yao T, Nakashima Y, Hirakawa K, Oshiro Y, Hirahashi M, Iwashita A, Watanabe S. Gastric adenocarcinoma of fundic gland type (chief cell predominant type): proposal for a new entity of gastric adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(5):609-619. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d94d53>
  17. Chan K, Brown IS, Kyle T, Lauwers GY, Kumarasinghe MP. Chief cell-predominant gastric polyps: a series of 12 cases with literature review. *Histopathology.* 2016;68(6):825-833. <https://doi.org/10.1111/his.12859>
  18. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
  19. Balakrishnan M, George R, Sharma A, Graham DY. Changing trends in stomach cancer throughout the world. *Curr Gastroenterol Rep.* 2017;19(8):36. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0575-8>
  20. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 2004;83:1431-1438.
  21. *Agents classified by the IARC Monographs, in IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans.* Lyon, France: IARC; 2018.
  22. Lin Y, Ueda J, Kikuchi S, Totsuka Y, Wei WQ, Qiao YL, Inoue M. Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China. *World J Gastroenterol.* 2011;17(39):4421-4428. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i39.4421>
  23. Naseem M, Barzi A, Brezden-Masley C, Puccini A, Berger MD, Tokunaga R, Battaglin F, Soni S, McSkane M, Zhang W, Lenz HJ. Outlooks on Epstein-Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev.* 2018;66:15-22. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.03.006>
  24. Ruge M, Genta RM, Di Mario F, El-Omar EM, El-Serag HB, Fassan M, Hunt RH, Kuipers EJ, Malfertheiner P, Sugano K, Graham DY. Gastric cancer as preventable disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017;15(12):1833-1843. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.05.023>
  25. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014;513(7517):202-209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>
  26. Ahn S, Lee SJ, Kim Y, Kim A, Shin N, Choi KU, Lee CH, Huh GY, Kim KM, Setia N, Lauwers GY, Park DY. High-throughput protein and mRNA expression-based classification of gastric cancers can identify clinically distinct subtypes, concordant with recent molecular classifications. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(1):106-115. <https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000756>
  27. Gonzalez RS, Messing S, Tu X, McMahon LA, Whitney-Miller CL. Immunohistochemistry as a surrogate for molecular subtyping of gastric adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2016;56:16-21. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2016.06.003>
  28. Setia N, Agoston AT, Han HS, Mullen JT, Duda DG, Clark JW, Deshpande V, Mino-Kenudson M, Srivastava A, Lennerz JK, Hong TS, Kwak EL, Lauwers GY. A protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer. *Mod Pathol.* 2016;29(7):772-784. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.55>
  29. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reynies A, Schlicker A, Song S, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015;21(11):1350-1356. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>
  30. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS, Liu J, Yue YG. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med.* 2015;21(5):449-456. <https://doi.org/10.1038/nm.3850>
  31. *Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma.* 15th ed. Tokyo, Japan: Kanehara Shuppan; 2017.
  32. Nakamura K, Sugano H, Takagi K. Carcinoma of the stomach in incipient phase: its histogenesis and histological appearances. *Gan.* 1968;59(3):251-258.
  33. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histological classification. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1965;64:31-49.
  34. Arai T, Sakurai U, Sawabe M, Honma N, Aida J, Ushio Y, Kanazawa N, Kuroiwa K, Takubo K. Frequent microsatellite instability in papillary and solid-type, poorly differentiated adenocarcinomas of the stomach. *Gastric Cancer.* 2013;16(4):505-512. <https://doi.org/10.1007/s10120-012-0226-6>
  35. Adachi Y, Yasuda K, Inomata M, Sato K, Shiraishi N, Kitano S. Pathology and prognosis of gastric carcinoma: well versus poorly differentiated type. *Cancer.* 2000;89(7):1418-1424.
  36. Yamada T, Yoshikawa T, Taguri M, Hayashi T, Aoyama T, Sue-Ling HM, Bonam K, Hayden JD, Grabsch HI. The survival difference between gastric cancer patients from the UK and Japan remains after weighted propensity score analysis considering all background factors. *Gastric Cancer.* 2016;19(2):479-489. <https://doi.org/10.1007/s10120-015-0480-5>
  37. Smyth EC, Fassan M, Cunningham D, Allum WH, Okines AF, Lampis A, Hahne JC, Ruge M, Peckitt C, Nankivell M, et al. Effect of pathologic tumor response and nodal status on survival in the medical research council adjuvant gastric infusional chemotherapy trial. *J Clin Oncol.* 2016;34(23):2721-2727. <https://doi.org/10.1200/jco.2015.65.7692>
  38. Kawazoe A, Kuwata T, Kuboki Y, Shitara K, Nagatsuma AK, Aizawa M, Yoshino T, Doi T, Ohtsu A, Ochiai A. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric Cancer.* 2017;20(3):407-415. <https://doi.org/10.1007/s10120-016-0631-3>
  39. Marrelli D, Polom K, de Manzoni G, Morgagni P, Baiocchi GL, Roviello F. Multimodal treatment of gastric cancer in the west: Where are we going? *World J Gastroenterol.* 2015;21(26):7954-7969. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i26.7954>
  40. Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Muller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prog-

- nostic value — conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol.* 2010;32(1-2):57-65.  
https://doi.org/10.3233/clo-2009-0497
41. Rokutan H, Hosoda F, Hama N, Nakamura H, Totoki Y, Furukawa E, Arakawa E, Ohashi S, Urushidate T, et al. Comprehensive mutation profiling of mucinous gastric carcinoma. *J Pathol.* 2016;240(2):137-148.  
https://doi.org/10.1002/path.4761
  42. Zheng HC, Li XH, Hara T, Masuda S, Yang XH, Guan YF, Takano Y. Mixed-type gastric carcinomas exhibit more aggressive features and indicate the histogenesis of carcinomas. *Virchows Arch.* 2008;452(5):525-534.  
https://doi.org/10.1007/s00428-007-0572-7
  43. Machado JC, Soares P, Carneiro F, Rocha A, Beck S, Blin N, Bex G, Sobrinho-Simoes M. E-cadherin gene mutations provide a genetic basis for the phenotypic divergence of mixed gastric carcinomas. *Lab Invest.* 1999;79(4):459-465.
  44. Hissong E, Ramrattan G, Zhang P, Zhou XK, Young G, Klimstra DS, Shia J, Fernandes H, Yantiss RK. Gastric Carcinomas With Lymphoid Stroma: An Evaluation of the Histopathologic and Molecular Features. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(4):453-462.  
https://doi.org/10.1097/pas.0000000000001018
  45. Gullo I, Oliveira P, Athelougou M, Goncalves G, Pinto ML, Carvalho J, Valente A, Pinheiro H, Andrade S, Almeida GM, et al. New insights into the inflamed tumor immune microenvironment of gastric cancer with lymphoid stroma: from morphology and digital analysis to gene expression. *Gastric Cancer.* 2019;22(1):77-90.  
https://doi.org/10.1007/s10120-018-0836-8
  46. Abe H, Saito R, Ichimura T, Iwasaki A, Yamazawa S, Shinozaki-Ushiku A, Morikawa T, Ushiku T, Yamashita H, Seto Y, Fukayama M. CD47 expression in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: coexistence with tumor immunity lowering the ratio of CD8(+)/Foxp3(+) T cells. *Virchows Arch.* 2018;472(4):643-651.  
https://doi.org/10.1007/s00428-018-2332-2
  47. Ushiku T, Shinozaki A, Shibahara J, Iwasaki Y, Tateishi Y, Funata N, Fukayama M. SALL4 represents fetal gut differentiation of gastric cancer, and is diagnostically useful in distinguishing hepatoid gastric carcinoma from hepatocellular carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(4):533-540.  
https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d1dcdd
  48. Roh JH, Srivastava A, Lauwers GY, An J, Jang KT, Park CK, Sohn TS, Kim S, Kim KM. Micropapillary carcinoma of stomach: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 11 cases. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(8):1139-1146.  
https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181e7043b
  49. Ushiku T, Matsusaka K, Iwasaki Y, Tateishi Y, Funata N, Seto Y, Fukayama M. Gastric carcinoma with invasive micropapillary pattern and its association with lymph node metastasis. *Histopathology.* 2011;59(6):1081-1089.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04055.x
  50. Miyazawa M, Matsuda M, Yano M, Hara Y, Arihara F, Horita Y, Matsuda K, Sakai A, Noda Y. Gastric adenocarcinoma of fundic gland type: Five cases treated with endoscopic resection. *World J Gastroenterol.* 2015;21(26):8208-8214.  
https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i26.8208
  51. Benedict MA, Lauwers GY, Jain D. Gastric Adenocarcinoma of the Fundic Gland Type: Update and Literature Review. *Am J Clin Pathol.* 2018;149(6):461-473.  
https://doi.org/10.1093/ajcp/aqy019
  52. Hayashi I, Muto Y, Fujii Y, Morimatsu M. Mucoepidermoid carcinoma of the stomach. *J Surg Oncol.* 1987;34(2):94-99.  
https://doi.org/10.1002/jso.2930340206
  53. Ooi A, Nakanishi I, Itoh T, Ueda H, Mai M. Predominant paneth cell differentiation in an intestinal type gastric cancer. *Pathol Res Pract.* 1991;187(2-3):220-225.  
https://doi.org/10.1016/s0344-0338(11)80775-2
  54. Capella C, Frigerio B, Cornaggia M, Solcia E, Pinzon-Trujillo Y, Chejfec G. Gastric parietal cell carcinoma—a newly recognized entity: light microscopic and ultrastructural features. *Histopathology.* 1984;8(5):813-824.  
https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1984.tb02397.x
  55. Gao S, Chen D, Huang L, Dai R, Shan Y. Primary squamous cell carcinoma of the stomach: a case report and literature review. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(8):9667-9671.
  56. Chen YY, Li AF, Huang KH, Lan YT, Chen MH, Chao Y, Lo SS, Wu CW, Shyr YM, Fang WL. Adenosquamous carcinoma of the stomach and review of the literature. *Pathol Oncol Res.* 2015; 21(3):547-551.  
https://doi.org/10.1007/s12253-014-9890-7
  57. Saito S, Hosoya Y, Morishima K, Ui T, Haruta H, Kurashina K, Meguro Y, Zuiki T, Sata N, Fujii H, Matsubara D, Niki T, Lefor AT, Yasuda Y. A clinicopathological and immunohistochemical study of gastric cancer with squamous cell carcinoma components: a clinically aggressive tumor. *J Dig Dis.* 2012;13(8):407-413.  
https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2012.00610.x
  58. Feng F, Zheng G, Qi J, Xu G, Wang F, Wang Q, Guo M, Lian X, Zhang H. Clinicopathological features and prognosis of gastric adenosquamous carcinoma. *Sci Rep.* 2017;7(1):4597.  
https://doi.org/10.1038/s41598-017-04563-2
  59. Chen H, Shen C, Yin R, Yin Y, Chen J, Han L, Zhang B, Chen Z, Chen J. Clinicopathological characteristics, diagnosis, treatment, and outcomes of primary gastric adenosquamous carcinoma. *World J Surg Oncol.* 2015;13:136.  
https://doi.org/10.1186/s12957-015-0554-1
  60. Mori M, Iwashita A, Enjoji M. Adenosquamous carcinoma of the stomach. A clinicopathologic analysis of 28 cases. *Cancer.* 1986; 57(2):333-339.  
https://doi.org/10.1002/1097-0142(19860115)57:2<333::aid-ncr2820570224>3.0.co;2-u
  61. Agaimy A, Daum O, Markl B, Lichtmanegger I, Michal M, Hartmann A. SWI/SNF complex-deficient undifferentiated/rhabdoid carcinomas of the gastrointestinal tract: A series of 13 cases highlighting mutually exclusive loss of SMARCA4 and SMARCA2 and frequent Co-inactivation of SMARCB1 and SMARCA2. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(4):544-553.  
https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000554
  62. Agaimy A, Rau TT, Hartmann A, Stoehr R. SMARCB1 (INI1)-negative rhabdoid carcinomas of the gastrointestinal tract: clinicopathologic and molecular study of a highly aggressive variant with literature review. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(7):910-920.  
https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000173
  63. Fernandes T, Silva R, Devesa V, Lopes JM, Carneiro F, Viamonte B. AIRP best cases in radiologic-pathologic correlation: gastroblastoma: a rare biphasic gastric tumor. *Radiographics.* 2014;34(7):1929-1933.  
https://doi.org/10.1148/rg.347130103
  64. Graham RP, Nair AA, Davila JI, Jin L, Jen J, Sukov WR, Wu TT, Appelman HD, Torres-Mora J, Perry KD, et al. Gastroblastoma harbors a recurrent somatic MALAT1-GLI1 fusion gene. *Mod Pathol.* 2017;30(10):1443-1452.  
https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.68
  65. Ma Y, Zheng J, Zhu H, Dong K, Zheng S, Xiao X, Chen L. Gastroblastoma in a 12-year-old Chinese boy. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(6):3380-3384.
  66. Miettinen M, Dow N, Lasota J, Sobin LH. A distinctive novel epitheliomesenchymal biphasic tumor of the stomach in young adults («gastroblastoma»): a series of 3 cases. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(9):1370-1377.  
https://doi.org/10.1097/pas.0b013e3181a6a792
  67. Shin DH, Lee JH, Kang HJ, Choi KU, Kim JY, Park DY, Lee CH, Sol MY, Park JH, Kim HY, Montgomery E. Novel epitheliomesenchymal biphasic stomach tumour (gastroblastoma) in a 9-year-old: morphological, ultrastructural and immunohistochemical findings. *J Clin Pathol.* 2010;63(3):270-274.  
https://doi.org/10.1136/jcp.2009.074104

68. Toumi O, Ammar H, Korbi I, Ayed M, Gupta R, Nasr M, Salem R, Hadhri R, Zayed S, Noomen F, Zakhama A, Zouari K. Gastroblastoma, a biphasic neoplasm of stomach: A case report. *Int J Surg Case Rep.* 2017;39:72-76. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2017.06.061>
69. Wey EA, Britton AJ, Sferra JJ, Kasunic T, Pepe LR, Appelman HD. Gastroblastoma in a 28-year-old man with nodal metastasis: proof of the malignant potential. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136(8):961-964. <https://doi.org/10.5858/arpa.2011-0372-CR>
70. Spans L, Fletcher CD, Antonescu CR, Rouquette A, Coindre JM, Sciot R, Debiec-Rychter M. Recurrent MALAT1-GLI1 oncogenic fusion and GLI1 up-regulation define a subset of plexiform fibromyxoma. *J Pathol.* 2016;239(3):335-343. <https://doi.org/10.1002/path.4730>

Поступила 10.02.2020

Received 10.02.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## Идентификация иммунокомпетентных клеток в тканях при сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах

© Р.А. МУХАМАДИЯРОВ<sup>1</sup>, И.В. МИЛЬТО<sup>2,3</sup>, А.Г. КУТИХИН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия;

<sup>3</sup>ФГУП «Северский биофизический научный центр» Федерального медико-биологического агентства России, Северск, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Описать структуру и провести идентификацию иммунокомпетентных клеток в тканях при различных сердечно-сосудистых заболеваниях методом сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах.

**Материал и методы.** В качестве эталонных объектов исследования выбран фрагмент стентированной внутренней сонной артерии, участок внутренней сонной артерии с атеросклеротической бляшкой, извлеченный в ходе коррекции тетрады Фалло стент, ксеноаортальный биопротез клапана сердца, участок средней мозговой артерии с аневризмой и фрагмент внутренней грудной артерии быка. Все образцы фиксировали в забуференном формалине, постфиксировали в тетраоксиде осмия, обезвоживали в этиловом спирте возрастающей концентрации, окрашивали уранилацетатом, пропитывали и заключали в эпоксидную смолу, шлифовали, полировали и контрастировали цитратом свинца. Визуализацию проводили посредством сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах после напыления на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода.

**Результаты.** Наибольшее количество макрофагов выявлено в неоинтима атеросклеротических бляшек внутренней сонной артерии (как первичной, так и извлеченной вследствие рестеноза стента), при этом морфологически определялись макрофаги с множеством различных органелл аппарата внутриклеточного переваривания, содержащих преимущественно клеточный детрит либо липиды. Значительное число нейтрофилов с большим количеством первичных и вторичных гранул выявлено в межклеточном матриксе створки удаленного ксеноаортального биопротеза клапана сердца. Тучные клетки, содержащие большое количество характерных крупных полиморфных гранул, наблюдались в составе всех изученных образцов.

**Заключение.** Представленный метод позволяет достоверно идентифицировать иммунокомпетентные клетки в тканях системы кровообращения.

**Ключевые слова:** макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, воспаление, электронная микроскопия.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Мухамадияров Р.А. — <https://orcid.org/0000-0002-5558-3229>

Мильто И.В. — <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>

Кутихин А.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>

### Как ЦИТИРОВАТЬ:

Мухамадияров Р.А., Мильто И.В., Кутихин А.Г. Идентификация иммунокомпетентных клеток в тканях при сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах. *Архив патологии*. 2020;82(4):70–78. <https://doi.org/10.17116/patol20208204170>

## Identification of immunocompetent cells in tissues by scanning electron microscopy in backscattered electrons

© R.A. MUKHAMADIYAROV<sup>1</sup>, I.V. MILTO<sup>2,3</sup>, A.G. KUTIKHIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

<sup>3</sup>Seversky Biophysical Research Center, Seversk, Russia

### ABSTRACT

**Objective.** To describe the structure and identification of immunocompetent cells in tissues for various cardiovascular diseases by the method of scanning electron microscopy in backscattered electrons.

**Materials and methods.** A fragment of stented internal carotid artery, a portion of internal carotid artery with atherosclerotic plaque extracted during the correction of Fallot stent, a xeno-aortic bioprosthesis of heart valve, a portion of middle cerebral artery with aneurysm, and a fragment of internal thoracic artery of the bull were selected as reference objects of study. All samples were fixed in buffered formalin, post-fixed in osmium tetroxide, dehydrated in increasing concentration of ethanol, colored with uranyl acetate, impregnated and encased in epoxy resin, grinded, polished and contrasted with lead citrate. Visualization was performed by scanning electron microscopy in backscattered electrons after sputtering on the polished surface of carbon epoxy blocks.

**Results.** The largest number of macrophages was detected in the neointima of atherosclerotic plaques of internal carotid artery (both primary and extracted due to stent restenosis), while macrophages with many different intracellular digestion organelles, mainly containing cell detritus or lipids, were morphologically determined. A significant number of neutrophils with a large number of primary and secondary granules were detected in the intercellular matrix of leaflet of heart valve remote xeno-aortic bioprosthesis. Mast cells containing a large number of characteristic large polymorphic granules were observed in all studied samples.

**Conclusion.** The presented method allows to reliably identify immunocompetent cells in the tissues of the circulatory system.

**Keywords:** macrophages, neutrophils, mast cells, inflammation, electron microscopy.

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Mukhamadiyarov R.A. — <https://orcid.org/0000-0002-5558-3229>

Milto I.V. — <https://orcid.org/0000-0002-9764-4392>

Kutikhin A.G. — <https://orcid.org/0000-0001-8679-4857>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Mukhamadiyarov RA, Milto IV, Kutikhin AG. Identification of immunocompetent cells in tissues by scanning electron microscopy in backscattered electrons. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):70–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204170>

Реакция организма на стресс в зависимости от триггера часто сопровождается септическим или асептическим воспалением [1]. Постановка диагноза и эффективность коррекции воспаления в значительной степени зависят от идентификации его типа, стадии и механизмов развития. Наряду с биохимическими показателями [2] особую роль в изучении воспаления играют морфологические методы, позволяющие выявить клеточный состав исследуемых тканей, оценить локальные межклеточные взаимодействия и визуализировать нарушения клеточного гомеостаза [3].

В современной морфологии накоплен большой опыт исследования воспаления в тканях сердечно-сосудистой системы [4–6], однако нельзя считать, что широко используемые в клинической практике методы универсальны и достаточны.

Рутинные гистологические методики не дают возможности достоверно идентифицировать клетки [6], применение иммуногистохимического исследования не позволяет достичь высокой детализации изучаемых структур. Кроме того, с помощью иммуногистохимического окрашивания можно достаточно точно типировать определенных вид клеток, однако оценить структуру образца в целом нельзя [7, 8].

С помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) можно изучать субклеточные структуры и формировать косвенные заключения о функциональном состоянии клетки. ТЭМ дает возможность оценить межклеточные взаимодействия и даже идентифицировать клетки при применении антител, конъюгированных с наночастицами золота (электронная иммуногистохимия). Однако существенным недостатком этого метода является очень малый размер изучаемой площади образца (около 0,5 мм<sup>2</sup>). Потеря большей части биологического материала в процессе приготовления ультратонких срезов и технические сложности при пробоподготовке также не способствуют широкому применению этого исследования [9].

Кроме того, общим недостатком рассмотренных методов является необходимость приготовления срезов, что вызывает затруднения при работе с образцами тканей, содержащих очаги минерализации или металлические имплантаты. Дополнительные возможности в этом аспекте демонстрирует ранее представленный нами метод, основанный на использовании сканирующей (растровой) электронной микроскопии (СЭМ) в обратно-рассеянных электронах [10]. Следует отметить, что биологический материал

для изучения предлагаемым методом нуждается в предварительной пробоподготовке: заключение в заливочные смолы и приготовление шлифов. Так как в данном методе отражение электронов, формирующих изображение, зависит от атомного веса входящих в состав образца элементов, образцы нуждаются в предварительном окрашивании тетраоксидом осмия и уранилацетатом, а также контрастировании цитратом свинца после полировки поверхности блока.

Изображения, полученные с использованием СЭМ в обратно-рассеянных электронах, имеют визуальное сходство с традиционными электронограммами ТЭМ, но представлены в негативном (инвертированном) контрасте. Сходство изображений обусловлено тем, что для фиксации и окрашивания образцов используются те же красители, что и для ТЭМ, в результате при обоих методах происходит контрастирование одних и тех же структур. Негативный контраст возникает вследствие того, что при СЭМ в обратно-рассеянных электронах светлые участки изображения формируются за счет отраженных от атомов образца электронов, в то время как при ТЭМ светлые участки изображения формируются электронами, прошедшими сквозь срез. Переключение в режим инверсии цвета (например, BSECOMP для микроскопа HitachiS-3400N) позволяет получать изображение, имеющее полное визуальное сходство с полученным при ТЭМ. Важной особенностью рассматриваемого метода является то, что при использовании низковязких смол (Epon, смола Спурра) он позволяет получать качественную структуру образцов, имеющих площадь от 1 см<sup>2</sup> и более.

В данном исследовании представлены результаты использования СЭМ в обратно-рассеянных электронах для исследования клеточного состава тканей в различных участках сердечно-сосудистой системы.

**Цель работы** — описание структуры и проведение идентификации иммунокомпетентных клеток в тканях при различных заболеваниях кровеносной системы методом СЭМ в обратно-рассеянных электронах.

## Материал и методы

В качестве эталонных объектов исследования выбраны: 1) фрагмент стентированной внутренней сонной артерии, полученный при повторной каротидной эндартерэктомии вследствие рестеноза (мужчина, 57 лет); участок сосуда извлечен у пациента с гемодинамически значимой хрониче-

ской ишемией головного мозга; 2) фрагмент внутренней сонной артерии с атеросклеротической бляшкой, взятый в момент каротидной эндартерэктомии; участок сосуда извлечен у мужчины 60 лет также с гемодинамически значимой хронической ишемией головного мозга; 3) стент, полученный при тотальной хирургической коррекции тетрады Фалло (девочка, 3 мес); 4) ксеноаортальный биопротез клапана сердца взят из митральной позиции после 2 сут функционирования в ходе реоперации вследствие тромбоза биопротеза (женщина 64 лет); 5) участок средней мозговой артерии с аневризмой, извлеченный в ходе операции (мужчина 38 лет); 6) внутренняя грудная артерия быка, применяемая для артериальной реконструкции (КемАнгиопротез, НеоКор).

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ. До включения в исследование от всех пациентов получено письменное информированное согласие.

После извлечения образцы тканей помещали в забуференный (pH 7,4) 10% водный раствор формалина (BioVitrum, Россия), фиксировали в течение 24 ч в формалине (2 смены раствора формалина по 12 ч каждая), затем биоматериал постфиксировали 1% тетраоксидом осмия в 0,1M фосфатном буфере в течение 12 ч, окрашивали 2% тет-раоксидом осмия в бидистиллированной воде в течение 48 ч. Далее образцы обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации (50, 60, 70, 80 и 95% этанол, все по две смены, каждая смена по 15 мин), окрашивали 2% уранилацетатом (Electron Microscopy Sciences, США) в 95% этаноле (5 ч), обезвоживали 99,7% изопропанолом (BioVitrum, Россия) в течение 5 ч и ацетоном (Реахим, Россия) 1 ч, пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой Epon (Electron Microscopy Sciences, США) в соотношении 1:1 (6 ч). Потом образцы переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (на 24 ч) и далее проводили ее полимеризацию в емкостях FixiForm (Electron Microscopy Sciences, США) при 60 °C. После этого образцы в эпоксидных блоках подвергали шлифовке и полировке на установке TegraPol-11 (Struers, США). Контрастирование цитратом свинца проводили по Рейнольдсу в течение 7 мин путем нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. Далее напыляли на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10–15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста (EM ACE200, Leica). Визуализацию структуры образцов при помощи СЭМ в обратно-рассеянных электронах проводили на электронном микроскопе Hitachi-S-3400N (Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ.

На цифровых микрофотографиях идентифицировали макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки, определяли их локализацию и взаимодействие между собой и с другими элементами ткани.

## Результаты

При использовании малого увеличения ( $\times 50$ – $100$ ) для изучения образцов отмечали хорошую визуализацию структуры объекта. В частности, в стентированной артерии идентифицировались фрагменты стента, окруженные плотной волокнистой соединительной тканью, к которой

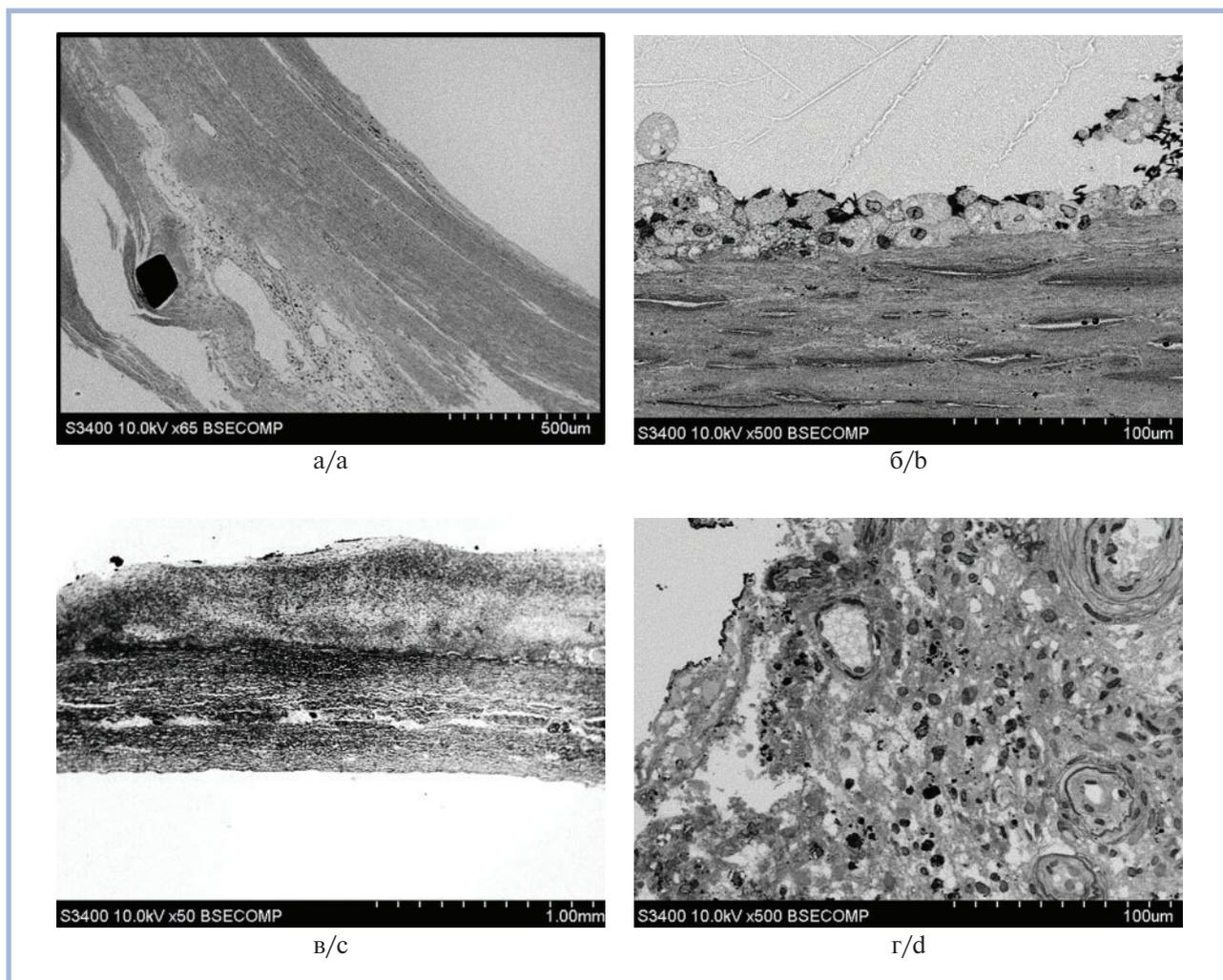
со стороны просвета сосуда прилегал широкий слой неинтимы (рис. 1, а). Наблюдала плотную волокнистую соединительную ткань в составе неинтимы, в которой можно было выделить несколько слоев (рис. 1, б). Слой, примыкающий к просвету сосуда, имел более высокую электронную плотность и состоял из концентрически расположенных волокон и клеток соединительной ткани (см. рис. 1, а). Затем следовал слой, обладающий низкой электронной плотностью и состоящий из диффузно-расположенных клеток со светлой цитоплазмой и ядрами, содержащими ядрышки (см. рис. 1, б). Под ним вблизи элементов стента находился слой, имеющий обильное кровоснабжение, вероятно, вследствие выраженной неоваскуляризации (см. рис. 1, б). Граница контакта плотной соединительной ткани с клетками была хорошо различима и имела неровную поверхность (см. рис. 1, б). Далее в сторону адвентиции следовал слой рыхлой волокнистой соединительной ткани с большим количеством полостей и кровеносных сосудов (см. рис. 1, а).

В ксеноаортальном биопротезе клапана сердца со сроком эксплуатации 2 сут наблюдали неравномерность электронной плотности: максимальную отмечали в середине образца, в остальных участках электронная плотность варьировала в широких пределах (рис. 1, в).

При среднем увеличении ( $\times 500$  раз) во фрагменте стентированной внутренней сонной артерии и средней мозговой артерии с аневризмой отмечали значительное улучшение детализации структуры объекта (рис. 1, б, г): были хорошо различимы ядра клеток, их форма, расположение хроматина, границы клеток, структура межклеточного матрикса. При этом увеличении в аневризме средней мозговой артерии выявлено большое количество разнообразных клеток соединительной ткани (см. рис. 1, г). Внутри адвентиции артерии регистрировали большое количество кровеносных сосудов малого диаметра и типичного строения (см. рис. 1, г). Повышение увеличения позволяло детализировать внутриклеточные структуры, благодаря чему можно было достоверно идентифицировать различные типы клеток (рис. 2). Среди них определялись макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки (см. рис. 2).

В образце стентированного сосуда выводного отдела левого желудочка у ребенка с тетрадой Фалло выявлен участок воспаления с преобладанием в инфильтрате макрофагов (см. рис. 2, а, б). Макрофаги имели типичное строение: в их цитоплазме отмечали присутствие большого количества фагосом и лизосом. Поверхность клеток имела многочисленные складки, ядра были неправильной формы (см. рис. 2, а, б). Макрофаги располагались на поверхности, обращенной в просвет сосуда, и образовывали один несплошной слой. Кроме того, большое количество макрофагов находилось в глубоких слоях образца (см. рис. 2, а, б). Вокруг макрофагов наблюдали обширные участки деструкции тканей (см. рис. 2, а, б).

В составе атеросклеротических бляшек структура макрофагов была аналогична наблюдавшейся у мононуклеарных фагоцитов в составе стентированного сосуда (см. рис. 2, в). Они образовывали небольшие клеточные скопления, состоящие из клеток с различным соотношением содержания фагосом и лизосом (см. рис. 2, в). Вблизи скопления макрофагов также выявляли очаги деструкции тканей (см. рис. 2, в). В атеросклеротических бляшках внутренней сонной артерии отмечали наличие двух морфологически различных видов макрофагов с преобладанием в цитоплазме светлых липидных включений (см. рис. 2, г) и осмиофильных лизосом (см. рис. 2, д). Весьма характерно, что пред-



**Рис. 1.** Фрагмент стентированной внутренней сонной артерии, полученный в результате повторной каротидной эн-дартерэктомии вследствие рестеноза (а, б), ксеноаортальный биопротез клапана сердца, извлеченный из митральной позиции после 2 сут функционирования (в), аневризма средней мозговой артерии (г).

**Fig. 1.** Fragment of stented internal carotid artery obtained as a result of repeated carotid endarterectomy due to restenosis (a, b), xeno-aortic bioprosthesis of heart valve, removed from the mitral position after 2 days of functioning (c), aneurysm of middle cerebral artery (d).

ставленные макрофаги всегда образовывали скопления только с морфологически сходными клетками и никогда не формировали смешанных скоплений (см. рис. 2, г, д).

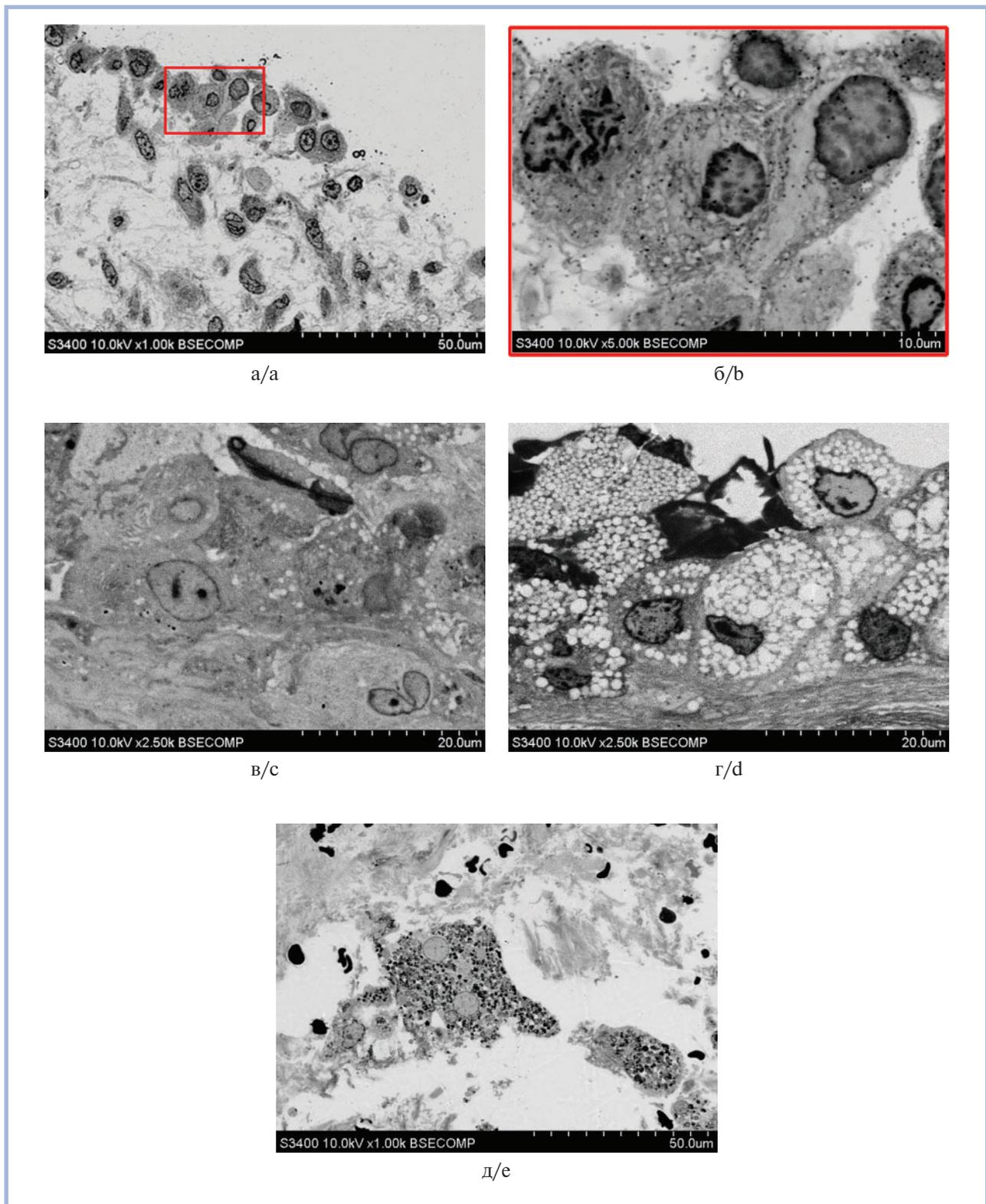
Макрофаги с преобладанием светлых везикул всегда располагались в виде скоплений. Клетки имели округлую форму, большая часть цитоплазмы была заполнена округлыми везикулами различного размера (см. рис. 2, г). По периферии клеток присутствовал слой цитоплазмы, не содержащей везикул (см. рис. 2, г). В отдельных клетках количество везикул было относительно небольшим (в таком варианте цитоплазма имела более высокую электронную плотность) (см. рис. 2, г). Часто внутри скопления клеток этого вида наблюдали наличие внеклеточного материала с высокой электронной плотностью (см. рис. 2, г).

В участках, содержащих макрофаги с большим количеством лизосом, внутри скопления между клетками отсутствовали плотные межклеточные контакты (см. рис. 2, д). Лизосомы были многочисленны, обладали высокой ос-

миофильностью и равномерно заполняли весь объем цитоплазмы (см. рис. 2, д). Количество прозрачных везикул было значительно ниже, чем лизосом, и они диффузно располагались в цитоплазме (см. рис. 2, д). Для ядер этих клеток характерно отсутствие плотных скоплений хроматина (см. рис. 2, д).

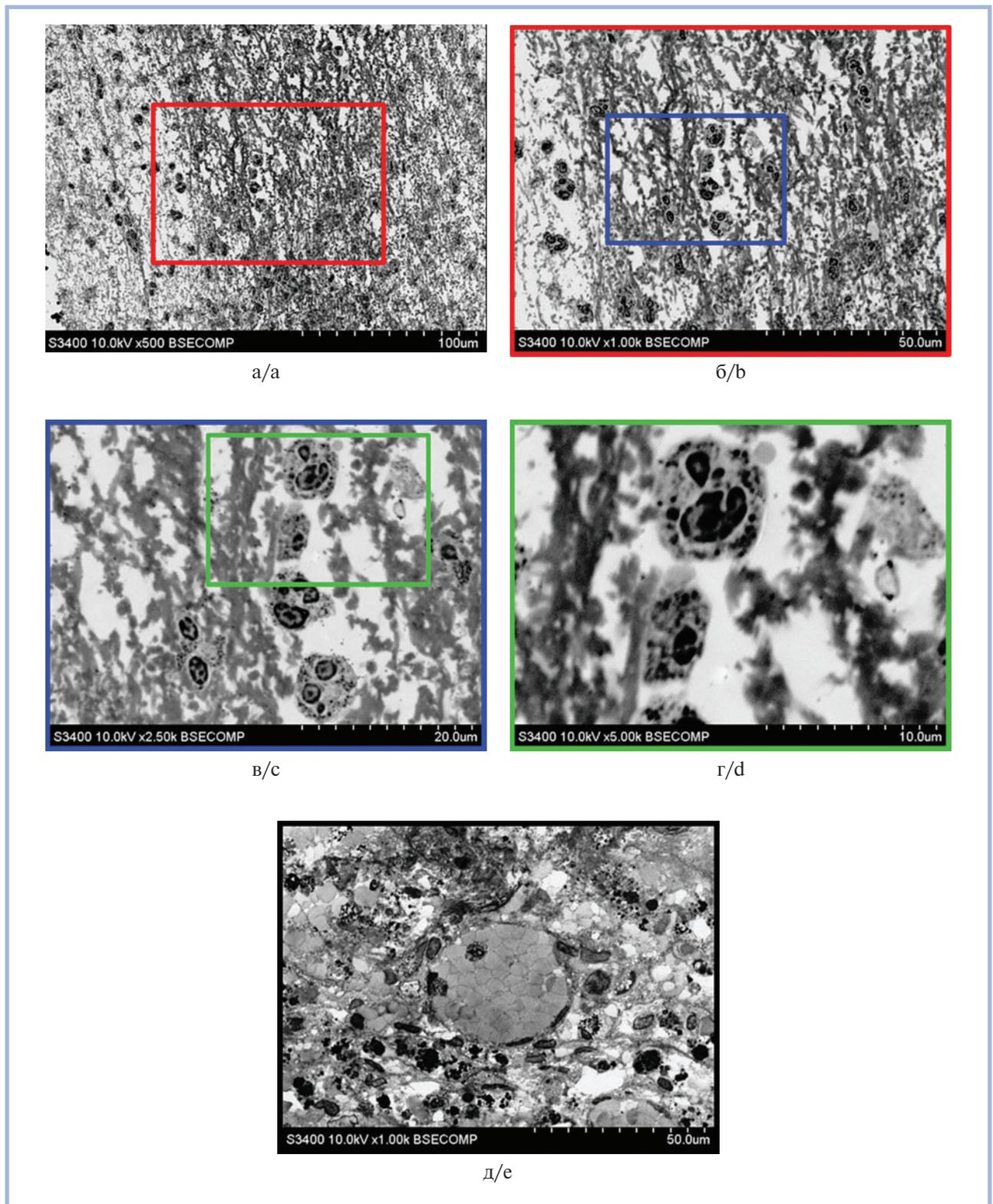
В образцах с аневризмой средней мозговой артерии также находили большое количество макрофагов, которые локализовались вблизи *vasa vasorum*. Среди этих макрофагов можно было условно выделить макрофаги с преобладанием лизосом и везикул, но в отличие от ранее рассмотренного материала они не образовывали плотных клеточных скоплений. Расположение клеток было диффузным и макрофаги обоих представленных выше видов могли соседствовать друг с другом.

Среди изученных образцов наибольшее количество нейтрофилов наблюдали в составе ксеноаортального биопротеза клапана сердца (рис. 3, а–г).



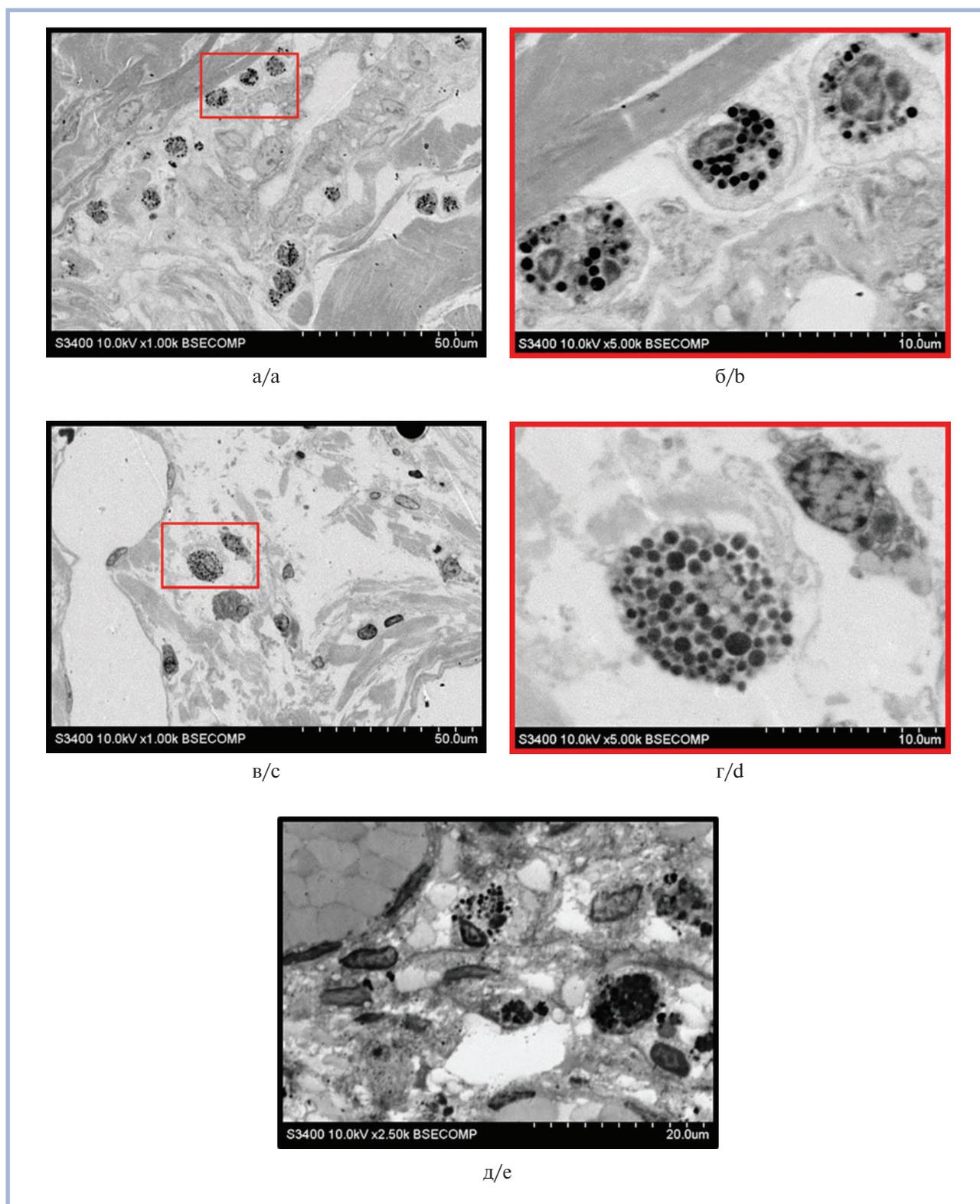
**Рис. 2.** Макрофаги в составе удаленного стента выводного отдела правого желудочка при тотальной коррекции тетрады Фалло (а, б), макрофаги в составе атеросклеротической бляшки сонной артерии (в), вакуолизированные макрофаги в составе рестенозирующей неоинтимы атеросклеротической бляшки сонной артерии (г), макрофаги с большим количеством лизосом в составе рестенозирующей неоинтимы атеросклеротической бляшки сонной артерии (д).

**Fig. 2.** Macrophages as a part of removed stent of excretory part of right ventricle during total correction of Fallot tetrads (a, b), macrophages as part of atherosclerotic plaque of carotid artery (c), vacuolated macrophages as part of restenosing neointima of carotid artery atherosclerotic plaque (d), macrophages with large carotid artery plaque in the number of lysosomes in restenosing neointima of carotid artery atherosclerotic plaque (e).



**Рис. 3.** Нейтрофилы в створке ксеноаортального биопротеза клапана сердца (а, б, в, г) и аневризмы средней мозговой артерии (д).

**Fig. 3.** Neutrophils in the leaflet of xeno-aortic bioprosthesis of heart valve (a, b, c, d) and aneurysms of middle cerebral artery (e).



**Рис. 4.** Тучные клетки во внутренней грудной артерии быка (а, б), атеросклеротической бляшке сонной артерии (в, г) и аневризме средней мозговой артерии (д).

**Fig. 4.** Mast cells in internal thoracic artery of bull (a, b), atherosclerotic plaque of carotid artery (c, d) and aneurysm of middle cerebral artery (e).

Нейтрофилы локализовались вблизи поверхности створок, проникая в них на глубину, составляющую четверть толщины створки (см. рис. 3, а—г). Следует отметить явно выраженную фрагментацию волокон межклеточного матрикса в составе створок биопротеза (см. рис. 3, а—г). Максимальную фрагментацию наблюдали на периферии створки, ближе к центральной ее области сохранность внеклеточного материала была выше (см. рис. 3, а—г). Вблизи нейтрофилов отмечали выраженные очаги полной деструкции волокон межклеточного матрикса (см. рис. 3, а—г). В составе ядер нейтрофилов определялось от одного до пяти сегментов (см. рис. 3, а—г). При большом увеличении ( $\times 5000$  раз) хорошо выявлялись типичные для этого вида гранулоцитов гранулы: небольшое количество крупных первичных и большое количество мелких вторичных (см. рис. 3, г). В образце сосуда с аневризмой нейтрофилы наблюдали вблизи кровеносных сосудов адвентиции в областях, где присутствовали макрофаги (рис. 3, д).

Тучные клетки обнаруживали в составе внутренней грудной артерии быка, а также во фрагменте стентированной внутренней сонной артерии, аневризме мозговой артерии (рис. 4, а—д). Во внутренней грудной артерии быка тучные клетки не контактировали друг с другом и располагались рядами (см. рис. 4, а, б). Эти клетки имели большое количество полиморфных по содержанию и размерам гранул (см. рис. 4, а, б). В сосудах со стентом тучные клетки образовывали небольшие группы (см. рис. 4, в, г). В области аневризмы мозговой артерии тучные клетки наблюдали вблизи сосудов адвентиции в виде отдельных клеток, находящихся в участках, содержащих другие иммунокомпетентные клетки (см. рис. 4, д). Особенностью этих клеток было расположение гранул преимущественно на одном из полюсов клетки, вследствие чего ядра локализовались эксцентрично (см. рис. 4, д).

## Обсуждение

Из-за большой гетерогенности тканей в составе сердечно-сосудистой системы и причин возникновения воспаления в них клиническое течение заболеваний кровеносной системы очень разнообразно. Идентифицированные в данном исследовании иммунокомпетентные клетки являются объективным критерием воспаления. Макрофаги тесно связаны с процессами деструкции и последующей регенерации тканей [12, 13], соотношение количества нейтрофилов и лимфоцитов является признанным критерием характеристики воспаления [14, 15], в то время как тучные клетки обладают регуляторной функцией и локально координируют деятельность всех клеток в зоне воспаления [16, 17].

После стентирования сосудов стент по истечении определенного времени покрывается слоем неоинтимы [18]. В изученном образце стентированной сонной артерии эндотелиальный слой отсутствовал и наблюдалась деструкция стенки сосуда при участии макрофагов, которые локализовались поверхностно и не проникали вглубь плотной волокнистой соединительной ткани внутреннего слоя неоинтимы. Причина развития этого процесса неизвестна, но можно предположить гидродинамическое повреждение сосудистой стенки током крови. Признаков инфекционного процесса (инфекционных агентов, сегментоядерных лейкоцитов и др.) в данном образце не выявлено. В образце атеросклеротической бляшки отмечали наличие макрофагов, которые по морфологическим признакам являются пенистыми клетками. При этом среди макрофагов наблю-

дали два морфологически различных фенотипа — с преобладанием везикул или лизосом.

Наибольшее количество нейтрофилов отмечено в створках биопротезов клапана сердца. Помимо нейтрофилов в образце присутствовали отдельные макрофаги. Нейтрофилы локализованы вблизи разрушенных волокон межклеточного матрикса, что служит доказательством их участия в деструкции ксеноматериала биопротеза клапана. Обширные области деструкции ткани через 2 сут после имплантации биопротеза свидетельствуют о высокой активности нейтрофилов. Кроме того, наличие в составе створок биопротеза нейтрофилов различной степени зрелости свидетельствует об их усиленной мобилизации для участия в процессе деструкции. Возможной причиной столь стремительной деструкции материала биопротеза может являться системное воспаление в предоперационном периоде [19]. Лаброциты, обнаруженные в стенке при аневризме мозговой артерии, находились вблизи мелких сосудов стенки артерии совместно с макрофагами, что может указывать на активные деструктивные процессы, происходящие в изучаемом участке.

В отношении тучных клеток в составе внутренней грудной артерии быка можно предположить, что они были имобилизованы во время технологического процесса ее химической обработки для дальнейшего применения для артериальной реконструкции. В таком виде эти клетки не способны к дегрануляции и активному выделению вазоактивных веществ в межклеточное пространство. Вероятно, иная ситуация характерна для тучных клеток, находящихся в составе стентированного сосуда и с атеросклеротическими бляшками. Локализация этих клеток вблизи мелких сосудов адвентиции позволяет предположить, что тучные клетки оказывают вазоактивное действие.

Отметим, что представленный метод пробоподготовки и микроскопии тканей является новым и интерпретация данных основана на визуальном анализе цифровых фотографий или наблюдении изображения при работе с электронным микроскопом. Необходимо дальнейшее исследование традиционных объектов с использованием разработанного метода и накопление данных о структуре клеток и межклеточного вещества. Для увеличения надежности идентификации структур необходимо сочетать предлагаемый метод с иными современными видами электронной микроскопии.

## Заключение

Оригинальный метод длительной постфиксации и окрашивания тетраоксидом осмия с последующим окрашиванием уранилацетатом в процессе обезвоживания, заливкой ткани в эпоксиновую смолу, дальнейшей шлифовкой и полировкой образца, контрастированием цитратом свинца и сканирующей электронной микроскопией в обратно-рассеянных электронах позволяет достоверно идентифицировать иммунокомпетентные клетки в тканях системы кровообращения.

*Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ №0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».*

**Участие авторов:**

Концепция и дизайн исследования — Р.А. Мухамадияров, А.Г. Кутихин

Сбор и обработка материала — Р.А. Мухамадияров, И.В. Мильто, А.Г. Кутихин

Статистическая обработка — А.Г. Кутихин

Написание текста — Р.А. Мухамадияров, И.В. Мильто, А.Г. Кутихин

Редактирование — Р.А. Мухамадияров, И.В. Мильто, А.Г. Кутихин

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

**The authors declare no conflicts of interest.**

**ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES**

- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017;9(6):7204-7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Golia E, Limongelli G, Natale F, Fimiani F, Maddaloni V, Parigiano I, Bianchi R, Crisci M, D'Acerno L, Giordano R, Di Palma G, Conte M, Golino P, Russo MG, Calabrò R, Calabrò P. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep*. 2014;16(9):435. <https://doi.org/10.1007/s11883-014-0435-z>
- Buja LM, Butany J. *Cardiovascular Pathology*. 4th ed. Elsevier, Academic Press; 2015.
- Paquissi FC. The role of inflammation in cardiovascular diseases: the predictive value of neutrophil-lymphocyte ratio as a marker in peripheral arterial disease. *Ther Clin Risk Manag*. 2016;12:851-860. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S107635>
- Calabrese F, Angelini A, Carturan E, Thiene G. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: histomorphological diagnosis. *Ernst Schering Res Found Workshop*. 2006;55:305-321.
- Galis ZS, Lessner SM. Will the real plaque vasculature please stand up? Why we need to distinguish the vasa plaquorum from the vasa vasorum. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19(3):87-94. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2009.06.001>
- Akhavanpoor M, Wangler S, Gleissner CA, Korosoglou G, Katus HA, Erbel C. Adventitial inflammation and its interaction with intimal atherosclerotic lesions. *Front Physiol*. 2014;5:296. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00296>
- Nosalski R, Guzik TJ. Perivascular adipose tissue inflammation in vascular disease. *Br J Pharmacol*. 2017;174(20):3496-3513. <https://doi.org/10.1111/bph.13705>
- Sander B, Golas MM. Visualization of bionanostructures using transmission electron microscopical techniques. *Microsc Res Tech*. 2011;74(7):642-663. <https://doi.org/10.1002/jemt.20963>
- Mukhamadiyarov RA, Sevostyanova VV, Shishkova DK, Nokhrin AV, Sidorova OD, Kutikhin AG. Grinding and polishing instead of sectioning for the tissue samples with a graft: Implications for light and electron microscopy. *Micron*. 2016;85:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2016.03.005>
- Мухамадияров Р.А., Кутихин А.Г. Исследование нормальной и патологической микроскопической анатомии кровеносных сосудов при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019;4(1):6-14. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-1-6-14>
- Mukhamadiyarov RA, Kutikhin AG. Histology and histopathology of blood vessels: backscattered scanning electron microscopy approach. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019;4(1):6-14. (In Russ.). <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-1-6-14>
- Gordon S, Martinez-Pomares L. Physiological roles of macrophages. *Pflugers Arch*. 2017;469(3-4):365-374. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-1945-7>
- Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*. 2016;44(3):450-462. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015>
- Afari ME, Bhat T. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and cardiovascular diseases: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2016;14(5):573-577. <https://doi.org/10.1586/14779072.2016.1154788>
- Balta S, Celik T, Mikhailidis DP, Ozturk C, Demirkol S, Aparci M, Iyisoy A. The relation between atherosclerosis and the neutrophil-lymphocyte ratio. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2016;22(5):405-411. <https://doi.org/10.1177/1076029615569568>
- Beghdadi W, Madjene LC, Benhamou M, Charles N, Gautier G, Launay P, Blank U. Mast cells as cellular sensors in inflammation and immunity. *Front Immunol*. 2011;2:37. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00037>
- Theoharides TC, Alysandratos KD, Angelidou A, Delivanis DA, Sismanopoulos N, Zhang B, Asadi S, Vasiadi M, Weng Z, Miniati A, Kalogeromitros D. Mast cells and inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2012;822(1):21-33. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.12.014>
- Нохрин А.В., Тарасов Р.С., Мухамадияров Р.А., Барбараш Л.С. Этапный подход: стентирование выводного отдела правого желудочка с последующей радикальной коррекцией тетрады Фалло у маловесных детей — непосредственные и отдаленные результаты. *Детские болезни сердца и сосудов*. 2017;14(2):90-100. <https://doi.org/10.24022/1810-0686-2017-14-2-90-100>
- Nokhrin AV, Tarasov RS, Mukhamadiyarov RA, Barbarash LS. Staged approach: stenting of right ventricular outflow tract followed by tetralogy of Fallot definitive repair in low birthweight children — immediate and long-term results. *Pediatric Cardiovascular Diseases*. 2017;14(2):90-100. (In Russ.). <https://doi.org/10.24022/1810-0686-2017-14-2-90-100>
- Ackland GL, Abbott TEF, Cain D, Edwards MR, Sultan P, Karmali SN, Fowler AJ, Whittle JR, MacDonald NJ, Reyes A, Paredes LG, Stephens RCM, Del Arroyo AG, Woldman S, Archbold RA, Wragg A, Kam E, Ahmad T, Khan AW, Niebrzegowska E, Pearse RM. Preoperative systemic inflammation and perioperative myocardial injury: prospective observational multicentre cohort study of patients undergoing non-cardiac surgery. *Br J Anaesth*. 2019;122(2):180-187. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2018.09.002>

Поступила 16.11.2019

Received 16.11.2019

Принята в печать 19.02.2020

Accepted 19.02.2020

## Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта

© А.А. ИВИНА<sup>1, 2</sup>, В.Э. РОДИОНОВ<sup>1</sup>, И.И. БАБИЧЕНКО<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен современным представлениям об этиологии, патогенезе, диагностике и прогностических факторах лейкоплакии слизистой оболочки рта. В статье описаны современные неинвазивные методы выявления неоплазии при лейкоплакии, такие как оптическая когерентная томография, аутофлуоресцентная стоматоскопия и др. Проводится сравнение отечественной и зарубежной классификации лейкоплакии. Рассматриваются традиционная и бинарная системы градации дисплазии эпителия слизистой оболочки рта, новый термин «дифференцированная дисплазия» при лейкоплакии. Подробно разбирается малоизученный тип лейкоплакии с агрессивным клиническим течением, высокой частотой рецидивирования и вероятностью малигнизации — пролиферирующая веррукозная лейкоплакия. Учитывая, что до настоящего времени остается много нерешенных вопросов, касающихся патогенеза, диагностики и особенностей лечения различных видов лейкоплакии слизистой оболочки рта, существует острая необходимость дальнейшего более детального исследования этой нозологии.

**Ключевые слова:** лейкоплакия, дисплазия эпителия, пролиферирующая веррукозная лейкоплакия, плоскоклеточный рак.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ивина А.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8387-4413>

Родионов В.Э. — <https://orcid.org/0000-0003-0842-4169>

Бабиченко И.И. — <https://orcid.org/0000-0001-5512-6813>

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ивина А.А., Родионов В.Э., Бабиченко И.И. Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта. *Архив патологии*. 2020;82(4):79–83. <https://doi.org/10.17116/patol20208204179>

## Clinical and morphological features of oral leukoplakia

© А.А. ИВИНА<sup>1, 2</sup>, В.Э. РОДИОНОВ<sup>1</sup>, И.И. БАБИЧЕНКО<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Peoples' Friendship University of Russia (RUDN university), Moscow, Russia.

<sup>2</sup>National Medical Research Center of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia

### ABSTRACT

The review is devoted to modern perspectives of the etiology, pathogenesis, diagnosis and prognostic factors of oral leukoplakia. The review describes modern non-invasive methods for detecting neoplasia in leukoplakia, such as optical coherence tomography, autofluorescence stomatoscopy, etc. Comparison is made of the national and foreign classification of leukoplakia. The article reviewed the traditional and binary gradation systems of oral epithelial dysplasia and a new term «differentiated dysplasia» in leukoplakia. A poorly studied type of leukoplakia with an aggressive clinical course, a high recurrence rate and a high probability of malignancy — proliferative verrucous leukoplakia is analyzed in detail. Considering the fact that up to date there are many open questions regarding the pathogenesis, diagnosis and treatment characteristics of various types of oral leukoplakia, there is an urgent need for further more detailed study of this pathology.

**Keywords:** leukoplakia, epithelial dysplasia, proliferative verrucous leukoplakia, squamous cell carcinoma.

### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Ivina A.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8387-4413>

Rodionov V.E. — <https://orcid.org/0000-0003-0842-4169>

Babichenko I.I. — <https://orcid.org/0000-0001-5512-6813>

### TO CITE THIS ARTICLE:

Ivina AA, Rodionov VE, Babichenko II. Clinical and morphological features of oral leukoplakia. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):79–83. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204179>

В Классификации ВОЗ лейкоплакия слизистой оболочки рта (СОР) рассматривается как клинический термин с риском малигнизации, который после исключения других заболеваний используют для описания белых бляшек на СОР. Лейкоплакия встречается у 2—3% населения, чаще у лиц мужского пола. Основной причиной развития лейкоплакии является курение. К этиологическим факторам также относят употребление бездымного табака и злоупотребление алкоголем. В Юго-Восточной Азии основной причиной лейкоплакии является жевание ореха бетеля [1]. Влияние электронных сигарет на возникновение лейкоплакии не доказано, хотя считается, что они потенциально менее опасны по сравнению с обычными сигаретами, однако их влияние на СОР до конца не изучено [2]. Лейкоплакия встречается и у некурящих пациентов [3]. Избыток химических веществ в пищевых продуктах, распространенность инфекционных заболеваний, иммунодефицитные состояния, аллергияция организма, нерациональный прием антибактериальных средств и психоэмоциональное напряжение могут способствовать развитию лейкоплакии [4]. В 74,5% случаев лейкоплакии могут сопутствовать различные соматические заболевания: хронические заболевания желудочно-кишечного тракта в 52,6% случаев и эндокринной системы в 45,3% (преимущественно сахарный диабет 2-го типа) [5]. Описаны случаи идиопатической лейкоплакии, которая возникает у людей без перечисленных выше этиологических факторов. Считается, что к идиопатической лейкоплакии есть генетическая предрасположенность [6].

При описании лейкоплакии клиническое обследование должно включать не только детальный осмотр области поражения и окружающих ее тканей, но и пальпацию образования. Необходимо провести патоморфологическое исследование для исключения других нозологий, в том числе плоскоклеточного рака (ПР) СОР [7].

Одним из прогрессивных методов диагностики лейкоплакии является оптическая когерентная томография (ОКТ), которая благодаря использованию в качестве зондирующего излучения низкоинтенсивного света ближнего инфракрасного диапазона позволяет визуализировать морфологические особенности СОР [8]. Выявляя признаки малигнизации СОР в виде потери структурности тканей, ОКТ-исследование может способствовать распознаванию доброкачественного или злокачественного процесса СОР. Однако подобные томограммы являются лишь дополнением к стандартному гистологическому исследованию.

К новым методам диагностики лейкоплакии и ПР СОР относится аутофлюоресцентная стоматоскопия, основанная на различиях в интенсивности и спектральном составе эндогенного излучения здоровых и пораженных тканей при возбуждении в УФ-спектре или видимых диапазонах спектра. На практике при аутофлюоресцентной визуализации, т.е. осмотре слизистых оболочек в свете их аутофлюоресцентного излучения при освещении поверхности ткани возбуждающим излучением в области 380—460 нм, при озлокачествлении эпителия регистрируется резкое снижение интенсивности излучения относительно окружающей здоровой ткани. Широко применяется люминоскопия с помощью лампы Вуда (ОЛД-41), основанная на способности ткани и клеточных элементов изменять свой естественный цвет под действием УФ-лучей. Так, для здоровой СОР характерны оранжево-красные оттенки, при эрозиях и язвах — темно-коричневое окрашивание, при лейкоплакии — бело-голубое свечение.

Несмотря на простоту, неинвазивность и безболезненность, точность диагностики данного экспресс-метода составляет 75,9%. Одним из наиболее эффективных методов предварительного скрининга предраковых состояний СОР считается прямая визуализация флюоресценции с использованием аппарата VELscope Vx Enhanced Oral Assessment System и скрининг-тест ViziLite Plus. Использование аппарата VELscope Vx позволяет обнаружить признаки предраковых и раковых изменений СОР на доклиническом уровне при отсутствии видимых признаков поражения. Применение такой методики при наличии видимых изменений СОР также помогает выявить истинные границы патологических процессов, недоступные визуальному осмотру. Использование красителей, входящих в состав системы ViziLite Plus, позволяет окрашивать и визуально определять при обычном освещении предраковые и раковые клетки, отражая интенсивностью окраски степень выраженности диспластических процессов СОР. Однако изменения, вызывающие подобные различия излучений, связаны, как правило, с выраженными поражениями ткани, характерными для поздних предраковых процессов и непосредственно для ПР СОР. Соответственно точность диагностики ранних предраковых изменений с высоким потенциалом к малигнизации остается на низком уровне, поэтому данные методы диагностики перспективные, но не ведущие [9].

Согласно классификации А.Л. Машкиллэйсона выделяют 4 клинические формы лейкоплакии: плоскую, веррукозную, эрозивную и лейкоплакию курильщиков Таппейнера (никотиновый стоматит) [10]. Веррукозная и эрозивная формы лейкоплакии обладают наибольшей потенциальной злокачественностью и выявляются у 3,5% пациентов. В структуре заболеваемости лейкоплакией веррукозная форма составляет до 20% случаев, а эрозивная — до 25,5%. Чаще поражается слизистая оболочка щеки (94,2%), нижней губы (44,3%) и языка (36,3%) [5].

В зарубежной литературе выделяют 2 основных вида лейкоплакии: гомогенную (homogenous) и негомогенную (non-homogenous). Которые, судя по клиническому описанию, соответствуют плоской и веррукозной лейкоплакии. Термин гомогенная лейкоплакия используют, если образование однородного белого цвета с плоской поверхностью и четкими ровными краями. Она не имеет вкраплений, трещин, эритемы, узелков, бородавчатых разрастаний. Термин негомогенная лейкоплакия применяют, если края образования неровные и нечеткие, при этом поверхность образования неравномерно возвышается над уровнем здоровой СОР за счет разрастаний в виде узелков и бородавок, могут быть вкрапления, трещины и эритема. Гистологически плоская лейкоплакия представляет умеренную гиперплазию эпителия СОР с гиперкератозом, а веррукозная лейкоплакия — выраженный гиперкератоз, гиперплазию шиповатого слоя эпителия и широкие эпителиальные выросты в собственную пластинку СОР [11].

При негомогенном виде лейкоплакии риск малигнизации выше. Ежегодно в 1—3% случаев лейкоплакия трансформируется в ПР [12]. Большинству ПР предшествуют видимые изменения СОР [13], в 67% случаев это лейкоплакия [14]. Однако имеются данные, что уровень злокачественной трансформации лейкоплакии варьирует от 0,13 до 17,5% [15].

В настоящее время нет надежных маркеров, которые могли бы точно предсказывать риск малигнизации лейкоплакии, но есть признаки, являющиеся прогностическими факторами повышенного риска развития злокачественной

опухоли. К ним относятся признаки, описанные К. Staines и Н. Rogers [7]: узелки и бородавчатые разрастания на поверхности, участки эритемы в пределах лейкоплакии (эритролейкоплакия), женский пол, пожилой возраст, идиопатическая лейкоплакия, локализация лейкоплакии в области дна полости рта, боковой поверхности языка и мягкого неба, размер образования более 200 мм<sup>2</sup>, рак головы или шеи в анамнезе, кандидозная инфекция при лейкоплакии, так как некоторые штаммы *Candida* spp. синтезируют канцерогенные нитрозамины, способствуют дисплазии.

Дисплазия — это морфологический термин, используемый в описании патологии эпителия, для которого характерны тканевые и клеточные изменения. Традиционно эпителиальная дисплазия разделена на 3 степени. В зависимости от того, насколько поражена толщина эпителия, выделяют низкую степень дисплазии (изменения в нижней трети эпителия), среднюю степень (изменения затрагивают две трети толщины эпителия) или высокую степень (изменения более двух третей толщины эпителия). При раке *in situ* дисплазия охватывает всю толщу эпителия, но в пределах базальной мембраны [16]. Согласно этой классификации, в 19—46% случаев при лейкоплакии отмечаются диспластические изменения [17].

Некоторые авторы предлагают использовать бинарную систему оценки дисплазии. Она также основана на тканевых и клеточных изменениях. Для дисплазии высокого риска характерны как минимум 4 тканевых признака и 5 клеточных, а для дисплазии низкого риска характерно меньшее число признаков. Авторы, предлагающие бинарную систему, указывают, что данная методика прогнозирования злокачественной трансформации обладает в 85% случаев чувствительностью и в 80% специфичностью [18].

Развитие злокачественной опухоли при наличии дисплазии эпителия происходит в 5—36%. Считается, что чем выше степень дисплазии, тем выше риск малигнизации [19]. Лейкоплакия трансформируется в ПР СОР в 50% случаев, если есть высокая степень дисплазии, в 30% — средняя степень дисплазии и менее чем в 5% — низкая степень дисплазии. По данным других исследований [20], злокачественная трансформация лейкоплакии происходит в 10,3% случаев при легкой или умеренной дисплазии и в 24,1% при тяжелой дисплазии.

Недавно был предложен термин «дифференцированная дисплазия» при лейкоплакии. Она характеризуется наличием мелких клеток в базальном слое с гиперхромными ядрами и маленькими ядрышками. Клетки, расположенные над базальным слоем, крупные с обильной эозинофильной цитоплазмой (имеются различия в степени эозинофилии клеток). Отмечается межклеточный отек с хорошо видимыми десмосомами. Возможна гиперплазия эпителия. Показано, что при подобной дисплазии заметно повышается риск развития ПР СОР, поэтому некоторые авторы предлагают выделить отдельно этот вид дисплазии [21].

Особый вид лейкоплакии — это пролиферирующая веррукозная лейкоплакия (ПВЛ), описанная впервые в 1985 г. L. Hansen и соавт. как длительно прогрессирующее состояние, первоначально развивающееся в виде гиперкератотического изменения по типу белой бляшки, количество бляшек со временем увеличивается [22, 23]. Известно, что ПВЛ чаще встречается у пожилых некурящих женщин [3], и только у 34,7% курящих пациентов [24]. Средний возраст на момент постановки диагноза ПВЛ превышает 60 лет и возникает у женщин в 4 раза чаще, чем у мужчин. Значе-

ние расовой принадлежности не доказано [14]. Считается, что ПВЛ развивается из одного или нескольких очагов гомогенной лейкоплакии, которые увеличиваются в размере и распространяются на другие участки СОР. Наиболее часто ПВЛ локализуется на десне (62,7%), на слизистой оболочке щеки (59,8%) и на языке (49,1%). Этот вид лейкоплакии имеет больший риск злокачественной трансформации, чем гомогенная или негомогенная лейкоплакия [25], она может происходить в 40—100% случаев в течение 4,4—11,6 года [26].

На ранних стадиях заболевания невозможно отличить ПВЛ от других видов лейкоплакии [27]. Обычно диагностика такого вида лейкоплакии основывается на сочетании гистологических и клинических данных. При множественном поражении СОР необходимо брать несколько биопсий из разных участков. При гистологическом исследовании отмечаются гиперкератоз, эпителиальная гиперплазия и атипия, которые затем могут прогрессировать в веррукозную лейкоплакию, веррукозную карциному и в конечном итоге в ПР. Это подтверждает необходимость повторных гистологических исследований каждые 3—6 мес для контроля динамики дисплазии и возможного развития злокачественной опухоли [28].

L. Hansen и соавт. [22] описали 5 клинико-морфологических стадий (с 1 по 10 степень) развития этого заболевания, считая, что нормальная слизистая оболочка имеет 0-ю степень:

- 1) лейкоплакия (2-я степень);
- 2) веррукозная лейкоплакия (4-я степень);
- 3) веррукозная карцинома (6-я степень);
- 4) папиллярный рак (8-я степень);
- 5) ПР (10-я степень).

В настоящее время представления о ПВЛ изменились. J. Batsakis и соавт. [29], A. Gillenwater и соавт. [30], V. Cargard и соавт. [31] и N. Ghazali и соавт. [32] предположили свои варианты алгоритма диагностики этого заболевания. Наиболее емкую систему оценки критериев ПВЛ описали R. Sagero-Lapiedra и соавт. в 2010 г. [33]. Все признаки были разделены на две подгруппы.

1-я подгруппа. Основные критерии:

A. Лейкоплакия поражает более двух участков СОР, располагается чаще на десне, альвеолярном отростке или нёбе.

B. Имеется веррукозный участок.

C. Образование увеличивается или распространяется со временем.

D. Рецидив ранее леченной лейкоплакии.

Гистологически выявляют гиперкератоз, веррукозную гиперплазию, веррукозную карциному, рак *in situ* или ПР.

2-я подгруппа. Второстепенные критерии:

- a) все очаги лейкоплакии занимают около 3 см;
- b) женский пол;
- c) пациент (женщина или мужчина) не курит;
- d) длительность заболевания более 5 лет.

Для постановки диагноза ПВЛ необходимо следующее сочетание критериев:

- 3 основных критерия (критерий E должен входить);
- 2 основных критерия (критерий E должен входить) и 2 второстепенных.

Фактически невозможно отличить раннее проявление ПВЛ от других видов лейкоплакии или лихеноидных реакций как клинически, так и гистологически [34]. Поэтому диагноз ПВЛ можно поставить только путем тщательного наблюдения за динамикой развития заболевания [35].

Отдельного внимания заслуживает термин веррукозная гиперплазия, первоначально предложенный М. Shear и J. Pindborg в 1980 г. [36] для описания эпителиальной дисплазии, которая не связана с клиническими проявлениями. Определение веррукозной гиперплазии было основано исключительно на гистологической картине, когда рядом с веррукозной карциномой были участки эпителиальной дисплазии. Без диспластических изменений термин веррукозная гиперплазия не использовали [37]. В литературе иногда отмечается, что веррукозная гиперплазия это либо начальная стадия, либо морфологический вариант веррукозной карциномы и веррукозная гиперплазия имеет тот же биологический потенциал, что и веррукозная карцинома, поэтому рекомендуют ее лечить так же [38]. На практике чаще веррукозная гиперплазия встречается без дисплазии. Термин гиперплазия в классическом понимании означает увеличение количества клеток и не подразумевает изменения морфологии клеток. Поэтому было предложено ввести новый термин — веррукозная дисплазия — для веррукозной гиперплазии с признаками дисплазии. Скорее всего первоначальный термин веррукозная гиперплазия следует использовать при веррукозной гиперплазии без признаков дисплазии. Разделение этих двух понятий является более подходящим [37].

До настоящего времени отсутствуют доказательства того, что удаление лейкоплакии предотвращает развитие ПР

СОР [39]. Небольшая часть гомогенных и негетерогенных лейкоплакий проходит спонтанно, без лечения. После хирургического удаления рецидивы возникают у 5—10% пациентов в год. Преимуществом хирургического лечения лейкоплакии является то, что весь участок пораженной слизистой оболочки отдадут на гистологическое исследование. Показано, что в 40—46% случаев выявляют дисплазию эпителия, рак *in situ* или ПР СОР [40]. Установлено, что в 7—12% случаев иссеченные участки содержали очаги ПР СОР.

Считается, что ПВЛ устойчива к различным методам лечения, включая хирургический, лазерную абляцию, применение ретиноидов, фотодинамическую терапию и химиотерапию. Поэтому, несмотря на проводимую терапию, риск злокачественной трансформации не снижается. Установлено, что средняя частота рецидивов составляет 85% при всех методах лечения ПВЛ [41].

Таким образом, до настоящего времени остается много нерешенных вопросов, касающихся патогенеза, диагностики и лечения различных видов лейкоплакии слизистой оболочки рта, в свою очередь широкое внедрение в клиническую практику современных клинико-морфологических методов открывает перспективу более детального исследования этой нозологии.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ, eds. *WHO classification of head and neck tumours*. 4th ed. Lyon: IARC; 2017.
2. Harrell PT, Simmons VN, Correa JB, Padhya TA, Brandon TH. Electronic nicotine delivery systems («e-cigarettes»): review of safety and smoking cessation efficacy. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;151(3):381-393. <https://doi.org/10.1177/0194599814536847>
3. Bagan JV, Jiménez-Soriano Y, Diaz-Fernandez JM, Murillo-Cortés J, Sanchis-Bielsa JM, Poveda-Roda R, Bagan L. Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: a series of 55 cases. *Oral Oncol*. 2011;47(8):732-735. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.05.008>
4. Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Чеминава Н.Р., Тачалов В.В., Лобода Е.С. Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы). *Пародонтология*. 2014;19(2):3-5. Orekhova LYu, Kudryavtseva TV, Cheminaeva NR, Tachalov VV, Loboda ES. Problems of dental health in young people (literature review). *Parodontologiya*. 2014;19(2):3-5. (In Russ.).
5. Искакова М.К., Заркумова А.Е., Нурмухамбетова Г.К. Удельный вес заболеваний слизистой оболочки полости рта среди часто встречающихся стоматологических заболеваний. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2018;1:188-192. Iskakova MK, Zarkumova AE, Nurmukhambetova GK. Udel'nyi ves zabolevanii slizistoi obolochki polosti rta sredi chasto vstrechayushchikhsya stomatologicheskikh zabolevanii. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2018;(1):188-192. (In Russ.).
6. Khan Z, Khan S, Christianson L, Rehman S, Ekwunife O, Samkange-Zeeb F. Smokeless tobacco and oral potentially malignant disorders in South Asia: a systematic review and meta-analysis. *Nicotine Tob Res*. 2017;20(1):12-21. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw310>
7. Staines K, Rogers H. Oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia: a review for dental practitioners. *Br Dent J*. 2017;223(9):655-661. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.881>
8. Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, McKenzie G, Jay A, Hopper C. Optical coherence tomography in the assessment of suspicious oral lesions: an immediate ex vivo study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2013;10(1):17-27. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2012.07.005>
9. Межевикина Г.С., Глухова Е.А. Современные методы диагностики предраковых и раковых изменений слизистой оболочки рта. *Наука молодых (EruditioJuvenium)*. 2018;6(4):600-606. Mezhevikina GS, Glukhova EA. Modern diagnostic methods precancerous and cancerous changes of the oral mucosa. *Science of the young (EruditioJuvenium/Nauka (EruditioJuvenium))*. 2018;6(4):600-606. (In Russ.). <https://doi.org/10.23888/HMJ201864600-606>
10. Боровский Е.В., Машкиллейсон А.Л. *Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ*. М.: Медицина; 2001. Borovskii EV, Mashkilleyson AL. *Zabolevaniya slizistoi obolochki polosti rta i губ*. М.: Meditsina; 2001. (In Russ.).
11. Ивина А.А., Семкин В.А., Рабинович О.Ф., Бабиченко И.И. К вопросу о злокачественном потенциале пролиферирующей веррукозной лейкоплакии. *Архив патологии*. 2020;82(3):13-17. Ivina AA, Semkin VA, Rabinovich OF, Babichenko II. To the question of proliferative verrucous leukoplakia malignant potential. *Archive of Pathology/Arkhiv patologii*. 2020;82(3):13-17. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208203113>

12. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol.* 2009;45(4-5):317-323. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.05.016>
13. Van der Waal I. Oral leukoplakia; a proposal for simplification and consistency of the clinical classification and terminology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;24(6):799-803. <https://doi.org/10.4317/medoral.23372>
14. Weber M, Wehrhan F, Baran C. Malignant transformation of oral leukoplakia is associated with macrophage polarization. *J Transl Med.* 2020;18(1):11. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-02191-0>
15. Munde A, Karle R. Proliferative verrucous leukoplakia: an update. *J Cancer Res Ther.* 2016;12(2):469-473. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.151443>
16. Ивина А.А. Современные представления о плоскоклеточном раке слизистой оболочки рта. *Архив патологии.* 2020;82(3):55-60. Ivina AA. Modern perspectives of oral squamous cell carcinoma. *Archive of Pathology/Arkhiv patologii.* 2020;82(3):55-60. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208203155>
17. Warnakulasuriya S, Ariyawardana A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. *J Oral Pathol Med.* 2016;45(3):155-166. <https://doi.org/10.1111/jop.12339>
18. Soares AB, Perschbacher K, Perez-Ordóñez. Oral potentially malignant disorders. *Diagn Histopathol.* 2018;24(5):161-165. <https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2018.03.005>
19. Liu W, Shi LJ, Wu L, Feng JQ, Yang X, Li J, Zhou ZT, Zhang CP. Oral cancer development in patients with leukoplakia clinicopathological factors affecting outcome. *PLoS One.* 2012;7(4):e34773. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034773>
20. Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC. Treatment and follow-up of oral dysplasia — a systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2009;31(12):1600-1609. <https://doi.org/10.1002/hed.21131>
21. Wils LJ, Poell JB, Evren I, Koopman MS, Brouns EREA, de Visscher JGAM, Brakenhoff RH, Bloemena E. Incorporation of differentiated dysplasia improves prediction of oral leukoplakia at increased risk of malignant progression. *Mod Pathol.* 2020. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0444-0>
22. Hansen LS, Olson JA, Silverman S Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(3):285-298. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(85\)90313-5](https://doi.org/10.1016/0030-4220(85)90313-5)
23. Rintala M, Vahlberg T, Salo T, Rautava J. Proliferative verrucous leukoplakia and its tumour markers: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2019;41(5):1499-1507. <https://doi.org/10.1002/hed.25569>
24. Gupta RK, Rani N, Joshi B. Proliferative verrucous leukoplakia misdiagnosed as oral leukoplakia. *J Indian Soc Periodontol.* 2017;21(6):499-502.
25. Pentenero M, Meleti M, Vescovi P, Gandolfo S. Oral proliferative verrucous leukoplakia: are there particular features for such an ambiguous entity? A systematic review. *Br J Dermatol.* 2014;170(5):1039-1047. <https://doi.org/10.1111/bjd.12853>
26. Borgna SC, Clarke PT, Schache AG, Lowe D, Ho MW, McCarthy CE, Adair S, Field EA, Field JK, Holt D, Risk JM, Rajlawat BP, Triantafyllou A, Shaw RJ. Management of proliferative verrucous leukoplakia: justification for a conservative approach. *Head Neck.* 2017;39(10):1997-2003. <https://doi.org/10.1002/hed.24845>
27. Akrish S, Eskander-Hashoul L, Rachmiel A, Ben-Izhak O. Clinicopathologic analysis of verrucous hyperplasia, verrucous carcinoma and squamous cell carcinoma as part of the clinicopathologic spectrum of oral proliferative verrucous leukoplakia: A literature review and analysis. *Pathol Res Pract.* 2019;215(12):152670. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152670>
28. Cheng YSL, Rees T, Wright J. A review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. *Clin Transl Med.* 2014;3(1):3. <https://doi.org/10.1186/2001-1326-3-3>
29. Batsakis JG, Suarez P, el-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia and its related lesions. *Oral Oncol.* 1999;35(4):354-359. [https://doi.org/10.1016/S1368-8375\(99\)00007-X](https://doi.org/10.1016/S1368-8375(99)00007-X)
30. Gillenwater AM, Vigneswaran N, Fatani H, Saintigny P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia (PVL): a review of an elusive pathologic entity! *Adv Anat Pathol.* 2013;20(6):416-423. <https://doi.org/10.1097/PAP.0b013e3182a92df1>
31. Carrard VC, Brouns ER, van der Waal I. Proliferative verrucous leukoplakia; a critical appraisal of the diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(3):411-413. <https://doi.org/10.4317/medoral.18912>
32. Ghazali N, Bakri MM, Zain RB. Aggressive, multifocal oral verrucous leukoplakia: proliferative verrucous leukoplakia or not? *J Oral Pathol Med.* 2003;32(7):383-392. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2003.00180.x>
33. Cerero-Lapedra R, Baladé-Martínez D, Moreno-López LA, Esparza-Gómez G, Bagán JV. Proliferative verrucous leukoplakia: A proposal for diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(6):839-845. <https://doi.org/10.4317/medoral.15.e839>
34. Lopez MA, Feio P, Santos-Silva AR, Vargas PA. Proliferative verrucous leukoplakia may initially mimic lichenoid reactions. *World J Clin Cases.* 2015;3(10):861-863. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i10.861>
35. Arduino PG, Bagan J, El-Naggar AK, Carrozzo M. Urban legends series: oral leukoplakia. *Oral Dis.* 2013;19(7):642-659. <https://doi.org/10.1111/odi.12065>
36. Shear M, Pindborg JJ. Verrucous hyperplasia of the oral mucosa. *Cancer.* 1980;46(8):1855-1862. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19801015\)46:8<1855::AID-CNCR2820460825>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19801015)46:8<1855::AID-CNCR2820460825>3.0.CO;2-%23)
37. Shah A, Desai RS, Shirsat P, Bansal S, Prasad P. Verrucous dysplasia or verrucous hyperplasia: Clarity in terminology. *Oral Oncol.* 2020;100:104457. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.104457>
38. Upadhyaya JD, Fitzpatrick SG, Islam MNA, Bhattacharyya I, Cohen DM. A retrospective 20-year analysis of proliferative verrucous leukoplakia and its progression to malignancy and association with high-risk human papillomavirus. *Head Neck Pathol.* 2018;12(4):500-510. <https://doi.org/10.1007/s12105-018-0893-7>
39. Lodi G, Franchini R, Warnakulasuriya S, Varoni EM, Sardella A, Kerr AR, Carrassi A, MacDonald LC, Worthington HV. Interventions for treating oral leukoplakia to prevent oral cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(7):CD001829. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001829.pub4>
40. Woo SB. Oral epithelial dysplasia and premalignancy. *Head Neck Pathol.* 2019;13(3):423-439. <https://doi.org/10.1007/s12105-019-01020-6>
41. Capella DL, Gonçalves JM, Abrantes AAA, Grando LJ, Daniel FI. Proliferative verrucous leukoplakia: diagnosis, management and current advances. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017;83(5):585-593. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2016.12.005>

Поступила 19.02.2020

Received 19.02.2020

Принята в печать 20.04.2020

Accepted 20.04.2020

## К 90-летию Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования

© Г.А. ФРАНК<sup>1</sup>, М.Ш. КНОПОВ<sup>1</sup>, В.К. ТАРАНУХА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Филиал Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Представлены основные этапы становления и развития Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

**Ключевые слова:** Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Центральный институт усовершенствования врачей.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Франк Г.А. — <https://orcid.org/0000-0002-3719-5388>

Кнопов М.Ш. — e-mail: [aolga@list.ru](mailto:aolga@list.ru)\*

Тарануха В.К. — e-mail: [tarval41@yandex.ru](mailto:tarval41@yandex.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Франк Г.А., Кнопов М.Ш., Тарануха В.К. К 90-летию Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования. *Архив патологии*. 2020;82(4):84–87. <https://doi.org/10.17116/patol20208204184>

## To the 90<sup>th</sup> anniversary of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education

© G.A. FRANK<sup>1</sup>, M.SH. KNOPOV<sup>1</sup>, V.K. TARANUKHA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Branch of the Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Moscow, Russia

### ABSTRACT

The main stages of formation and development of Russian Medical Academy of Continuing Professional Education are presented..

**Keywords:** Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Central Institute for Advanced Medical Studies.

### INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Frank G.A. — <https://orcid.org/0000-0002-3719-5388>

Knopov M.Sh. — e-mail: [aolga@list.ru](mailto:aolga@list.ru)

Taranukha V.K. — e-mail: [tarval41@yandex.ru](mailto:tarval41@yandex.ru)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Frank GA, Knopov MSh, Taranukha VK. To the 90<sup>th</sup> anniversary of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2020;82(4):84–87. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208204184>

В сентябре 1930 г. на заседании Коллегии Народного комиссариата здравоохранения РСФСР был решен вопрос об организации в Москве института повышения квалификации врачей. В проекте решения коллегии были сформулированы основные задачи института: усовершенствование и специализация врачей, подготовка научных кадров и организаторов здравоохранения. Институт должен был стать головным, т.е. принять на себя руководство учебно-методической деятельностью всех институтов усовершенствования медицинских кадров и возглавить научные работы по данной проблеме.

В соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации и приказом Наркомздрава РСФСР №792 от 1 декабря 1930 г. была организована Российская

медицинская академия непрерывного профессионального образования, которая при своем создании получила наименование Государственный московский институт усовершенствования и специализации врачей и организаторов здравоохранения, впоследствии (1931 г.) переименованный в Центральный институт усовершенствования врачей (ЦИУВ). Среди его создателей в первую очередь следует назвать наркома здравоохранения РСФСР (союзного наркомата тогда еще не было) Михаила Федоровича Владимирского. Его поддержка и помощь позволили профессорам Г.М. Данишевскому, В.Н. Розанову, В.Т. Талалаеву и Р.А. Лурья в кратчайший срок организовать новый важный для здравоохранения страны институт. Упомянутым приказом обязанности первого директора

ЦИУВ были возложены на проф. Григория Михайловича Данишевского.

Первое организационное собрание профессоров института состоялось 20 декабря 1930 г. В числе других в этом собрании приняли участие известные ученые — основатели будущих кафедр института: М.И. Авербах (кафедра глазных болезней), М.П. Киреев (кафедра инфекционных болезней), Р.А. Лурия (первая терапевтическая кафедра), М.С. Маргулис (кафедра нервных болезней), В.Н. Розанов (кафедра хирургии), А.Н. Сысин (кафедра коммунальной гигиены), В.Т. Талалаев (кафедра патологической анатомии).

18 февраля 1931 г. Народный комиссариат здравоохранения РСФСР утвердил устав института, согласно которому институт определялся как головное учреждение в государственной системе усовершенствования врачей.

Крупнейшие ученые-медики, составляющие гордость отечественной науки, отдавали свои знания и опыт делу усовершенствования и специализации врачей в стенах института. Здесь прежде всего следует упомянуть педагогов-академиков, ученых с мировым именем — это физиолог П.К. Анохин, В.В. Парин, патологоанатом А.И. Абрикосов, нейрохирург Н.Н. Бурденко, офтальмолог М.И. Авербах. В институте преподавали академики АМН СССР: хирурги С.С. Юдин, А.В. Вишневецкий и А.А. Вишневецкий, терапевты М.С. Вовси, Б.Е. Вотчал, И.А. Кассирский, А.Н. Крюков, микробиологи З.В. Ермольева, Л.А. Зильбер, гигиенист А.Н. Сысин, акушер-гинеколог М.С. Малиновский, травматолог Н.Н. Приоров, биохимик В.Н. Орехович, онколог А.И. Савицкий, педиатр Г.Н. Сперанский и многие другие.

Центральный институт усовершенствования врачей как любое учебное и научное заведение — это прежде всего люди. И говоря о становлении и развитии ЦИУВ, мы с глубокой признательностью и благодарностью вспоминаем их имена. Среди них такие талантливые руководители кафедральных коллективов, как профессора А.А. Антоньев (кафедра дерматовенерологии), А.С. Белоусов (кафедра гастроэнтерологии), И.А. Карплюк (кафедра гигиены питания), Ю.Н. Касаткин (кафедра медицинской радиологии), К.Я. Оглезнев (кафедра нейрохирургии), В.Л. Маневич (2-я кафедра хирургии), Г.П. Шульцев (2-я кафедра терапии) и многие другие.

С первых дней в институте проводилась работа по формированию кафедр, созданию материально-технической базы, планированию и организации учебной и научной работы. В течение первого года (1931) в институте было создано 20 кафедр.

В качестве основных клинических баз института были определены Московская городская клиническая больница им. С.П. Боткина, Центральная больница Наркомата путей сообщения, Центральный туберкулезный институт АМН СССР, Центральный институт курортологии, Клиника лечебного питания Института лечебного питания, Институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Институт онкологии, Институт общей и коммунальной гигиены, Институт эпидемиологии и микробиологии и ряд других научных и лечебных учреждений.

В 1935 г. в ЦИУВ было уже 58 кафедр. За первое 5-летие (1930—1935) были выпущены 14 664 врача и организатора здравоохранения, из них 20% подготовлены на выездных циклах. Из общего числа около 4500 — врачи хирургического профиля, 6000 — врачи-терапевты, 1000 — врачи-педиатры, более 1000 — организаторы здравоохранения.

В марте 1936 г. были организованы методические комиссии по хирургическому, терапевтическому и санитар-

но-гигиеническому секторам, которые вскоре были реорганизованы сначала в отделения, а затем в деканаты. Таким образом, факультеты в их современном виде действуют в академии с 1936 г. С января 1938 г. в ЦИУВ разрешена защита кандидатских диссертаций на советах факультетов.

Предвоенная пятилетка (1936—1940) характеризовалась для ЦИУВ также интенсивной работой по подбору кадров. В этой деятельности прослеживаются, к сожалению, особенности того периода. Так, за относительно короткий период времени (1936—1937) в ЦИУВ после проф. Д.В. Горфина сменилось пять директоров: Я.Л. Гроссман, Б.С. Гинзбург, С.Ю. Бельский, М.С. Металликов, С.Я. Шумаров, пока, наконец, директором не была назначена Вера Павловна Лебедева (1938—1959). В последующем академию возглавляли заслуженный врач РСФСР М.Д. Ковригина (1959—1986), академик АМН СССР, проф. К.П. Кашкин (1986—1988), проф. В.В. Гаврюшов (1988—1994), академик РАН, заслуженный врач РФ Л.К. Мошетова (1994—2019), член-корр. РАН, проф. Д.А. Сычев (с 2019 г. по настоящее время).

В 1939 г. начались военные действия на финском фронте, что отразилось на тематике проводимых циклов подготовки врачей для оказания высококвалифицированной медицинской помощи бойцам Красной Армии. Тематика большинства циклов насыщается военно-медицинскими вопросами.

Есть события, над которыми не властно время и человеческая память. Одним из таких событий является победа советского народа в Великой Отечественной войне. С 1941 г. вся жизнь института была подчинена требованиям военного времени. В первый месяц войны 99 сотрудников института (А.А. Вишневецкий, ассистенты И.Р. Степанов, Т.П. Макаренко, В.М. Морозов, Ю.Н. Соколов и др.) ушли на фронт. В октябре 1941 г. факультеты и кафедры института были закрыты. Однако полного свертывания деятельности ЦИУВ и эвакуации не было. В феврале 1942 г. возобновляют работу учебно-научная часть института и ряд кафедр хирургического профиля, восстановлена работа Ученого совета. За все военные годы ЦИУВ подготовил для фронта и тыла более 25 000 квалифицированных медицинских специалистов.

В решение сложных и ответственных задач, вставших перед медицинской службой Вооруженных Сил СССР и здравоохранением страны в годы Великой Отечественной войны, значительный вклад внесла отечественная медицинская наука. Годы войны насыщены фактами, свидетельствующими об активном участии ученых ЦИУВ в научных исследованиях, направленных на развитие системы, способов и средств медицинского обеспечения армии и флота в условиях боевых действий.

90-летний юбилей академии совпал с 75-й годовщиной Победы нашего народа в Великой Отечественной войне и мы с благодарностью и признательностью вспоминаем выдающихся сотрудников ЦИУВ, находившихся в период войны на руководящих военно-врачебных должностях. Вот имена некоторых из них: Н.Н. Бурденко — главный хирург Красной Армии, руководитель кафедрой нейрохирургии ЦИУВ, М.С. Вовси — главный терапевт Красной Армии, возглавлял кафедру 1-й терапии ЦИУВ, Т.Е. Болдырев — главный эпидемиолог Красной Армии, заведовал кафедрой эпидемиологии ЦИУВ, А.П. Фрумкин — главный уролог Красной Армии, возглавлял кафедру урологии ЦИУВ, Ф.Г. Кротков — главный гигиенист Красной Армии, руководил кафедрой радиационной гигиены

ЦИУВ, В.В. Гориневская — главный травматолог Красной Армии, возглавляла кафедру травматологии и военно-полевой хирургии ЦИУВ, Е.И. Смирнов — начальник Главного военно-санитарного управления Красной Армии, был руководителем кафедры организации и тактики санитарной службы ЦИУВ, Б.Е. Вотчал — главный терапевт Волховского фронта, руководил кафедрой 2-й терапии ЦИУВ, впоследствии переименованной в кафедру клинической фармакологии ЦИУВ, Л.В. Громашевский — главный эпидемиолог Закавказского фронта, заведовал кафедрой эпидемиологии ЦИУВ, Н.Н. Приоров — главный хирург эвакогоспиталей Наркомздрава СССР, возглавлял кафедру травматологии и ортопедии ЦИУВ и многие другие. После окончания войны институт приступил к решению мирных задач.

Отечественная медицина богата оригинальными научными школами, которые внесли огромный вклад в развитие организационных и клинических проблем медицинской науки и практики. В ряду крупнейших научных школ достойное место по праву принадлежит тем, которые были созданы ведущими кафедрами нашего института. Вот некоторые из них:

— школа М.И.Авербаха. В ней изучали проблемы глаукомы, трахомы, болезни зрительного нерва, травматизм глаз;

— школа Л.К. Богуща известна разработкой проблем искусственного пневмоторакса и хирургических методов его коррекции, экстраплеврального пневмолиза, кавернотомии, многоэтапной торакопластики при эмпиемах плевры, хирургического лечения туберкулеза;

— школа В.И. Бураковского, в которой изучали главным образом вопросы сердечно-сосудистой хирургии, анестезиологии, патофизиологии операционного и послеоперационного периодов;

— школа Н.Н. Бурденко, где особое внимание уделяли разработке проблем нейрохирургии, военно-полевой хирургии и хирургической эндокринологии;

— школа А.В. Вишневого вошла в историю медицины благодаря всестороннему изучению проблем местного обезболевания, нервной трофики, лечения нагноительных процессов, торакальной и военно-полевой хирургии;

— школа М.С. Вовси была нацелена на проблемы нефрологии, кардиологии и обмена веществ;

— школа З.В. Ермольевой стала хорошо известна в нашей стране в связи с созданием первого отечественного пеницилина, становлением науки об антибиотиках и их широким применением в лечебной практике;

— школа И.А. Кассирского всесторонне разрабатывала проблемы гематологии, ревматологии, кардиологии и тропической медицины;

— школа Ф.Г. Кроткова является первопроходцем в изучении проблем радиационной гигиены и радиационной безопасности в нашей стране;

— школа Н.Н. Приорова известна разработкой проблем травматологии, протезирования, организации ортопедотравматологической помощи;

— школа Г.Н. Сперанского вошла в историю медицины благодаря тщательной разработке проблем физиологии и патологии раннего детского возраста, включая период новорожденности;

— школа С.С. Юдина стала широко известна в стране в связи с тщательным изучением проблем неотложной хирургии, хирургии желудка, пластики пищевода и обезболевания.

В начале 60-х годов XX века институт становится авторитетным учреждением по подготовке научных кадров для здравоохранения многих стран Азии, Африки и Латинской Америки. С 1963 г. в институте стали регулярно функционировать Московские международные курсы больничных администраторов Всемирной организации здравоохранения.

В 1966 г. ЦИУВ приступил к проведению усовершенствования врачей путем преподавания по телевидению. Эта форма обучения практиковалась более 25 лет.

28 ноября 1966 г. за достигнутые успехи в развитии здравоохранения, медицинской науки, вклад в подготовку медицинских кадров институт был удостоен высшей награды страны — ордена Ленина — и его стали называть Центральным ордена Ленина институт усовершенствования врачей (ЦОЛИУВ).

В 1980 г. за успехи в деле повышения квалификации врачей и международное сотрудничество в последипломной подготовке медицинских кадров институт был награжден почетным знаком «Золотой Меркурий».

В 1994 г. институт был преобразован в Российскую медицинскую академию последипломного образования (РМАПО). РМАПО явилась крупнейшим учебно-методическим и научно-исследовательским центром в области непрерывного профессионального образования в Российской Федерации. Как головное учреждение академия оказывала методическую помощь всем образовательным учреждениям последипломного медицинского образования страны. На базе академии функционирует Центральная аттестационная комиссия Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В мае 2016 г. академия была реорганизована в форме присоединения к ней в качестве филиалов Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования, Казанской государственной медицинской академии, Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей, Пензенского института усовершенствования, в связи с чем РМАПО получила наименование Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО).

Прошли годы... Мы чтим память выдающихся ученых нашей академии. Это и экспонаты музея РМАНПО, и книга «Выдающиеся ученые Центрального института усовершенствования врачей», и многочисленные статьи, посвященные им. Однако лучшим памятником нашим учителям является сегодняшний день Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, ее нынешние дела.

Академия сегодня — это крупнейший учебный, научный и методический федеральный центр дополнительного и послевузовского профессионального образования медицинских кадров Российской Федерации. В академии функционирует более 100 кафедр, 5 факультетов (хирургический, терапевтический, педиатрический, стоматологический, профилактической медицины и организации здравоохранения), 4 диссертационных совета по нескольким научным специальностям, академический образовательный центр фундаментальной и трансляционной медицины, научно-исследовательский институт молекулярной и персонализированной медицины, клиника, центр практической подготовки врачей, музей, фундаментальная библиотека и другие подразделения.

Более 90% лиц, занимающих должности профессорско-преподавательского состава, имеют ученые степени

докторов и кандидатов наук. В академии работают 20 академиків РАН, 13 членов-корреспондентов РАН, 21 заслуженный деятель науки РФ, 48 заслуженных врачей РФ, 14 лауреатов Государственной премии и премии Правительства РФ, 20 заслуженных работников высшей школы РФ. За последнее 10-летие ежегодный выпуск специалистов, повысивших свою квалификацию в учебных подразделениях академии, составляет более 30 тыс. человек. Каждый год в академии обучаются более 1000 ординаторов и аспирантов. Академия успешно прошла очередную аккредитацию и лицензирование, что дает право осуществлять образовательную деятельность по многочисленным учебным программам послевузовского и дополнительного образования и реализовывать программы профессиональной переподготовки и повышения квалификации.

Сегодня, когда мы отмечаем 90-летие основания Российской медицинской академии непрерывного професси-

онального образования, следует подчеркнуть следующие моменты. Во-первых, сотрудники РМАНПО всегда были истинными патриотами: они все годы Великой Отечественной войны прошли в одном строю с солдатами и офицерами армии и флота, выполнив до конца свой долг перед Родиной. Во-вторых, ученые нашей академии возглавляли кафедры в разные годы, по-разному сложилась их судьба, но что их всех объединяет, так это безграничная преданность отечественной медицине, стремление сделать все возможное, чтобы уровень медицинской науки страны находился на должной высоте. В-третьих, важно отметить, что нынешний профессорско-преподавательский состав своими солидными научными трудами и плодотворной практической деятельностью сохраняет и развивает лучшие традиции российской медицины.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflicts of interest.**



*Уважаемые читатели!*

*Не забудьте подписаться на журнал  
«Архив патологии»*

Мы можем предложить Вам несколько способов оформления подписки:

- на сайте нашего издательства: [www.mediasphera.ru](http://www.mediasphera.ru)
- в интернет-магазине нашего издательства: [www.e-shop.mediasphera.ru](http://www.e-shop.mediasphera.ru)  
(здесь Вы можете подписаться и на PDF версию журнала)
- непосредственно в издательстве
- через любое отделение Почты России
- через альтернативные подписные агентства

Также наши журналы представлены в магазине



нужно всего лишь

набрать в поисковике магазина запрос - Media Sphera

*Оформите полугодовую подписку - получите дополнительно бесплатный доступ  
к электронной версии журнала*

Подписная компания проводится в следующие сроки:

- |   |  |
|---|--|
| • на сайте и в издательстве:            | • через отделение Почты России:          |
| I полугодие - с 1 сентября по 31 марта  | I полугодие - с 1 сентября по 15 декабря |
| II полугодие - с 1 апреля по 31 августа | II полугодие - с 1 апреля по 15 июня     |

Отдел распространения и подписки: 8 (495) 482 4329 или [zakaz@mediasphera.ru](mailto:zakaz@mediasphera.ru)

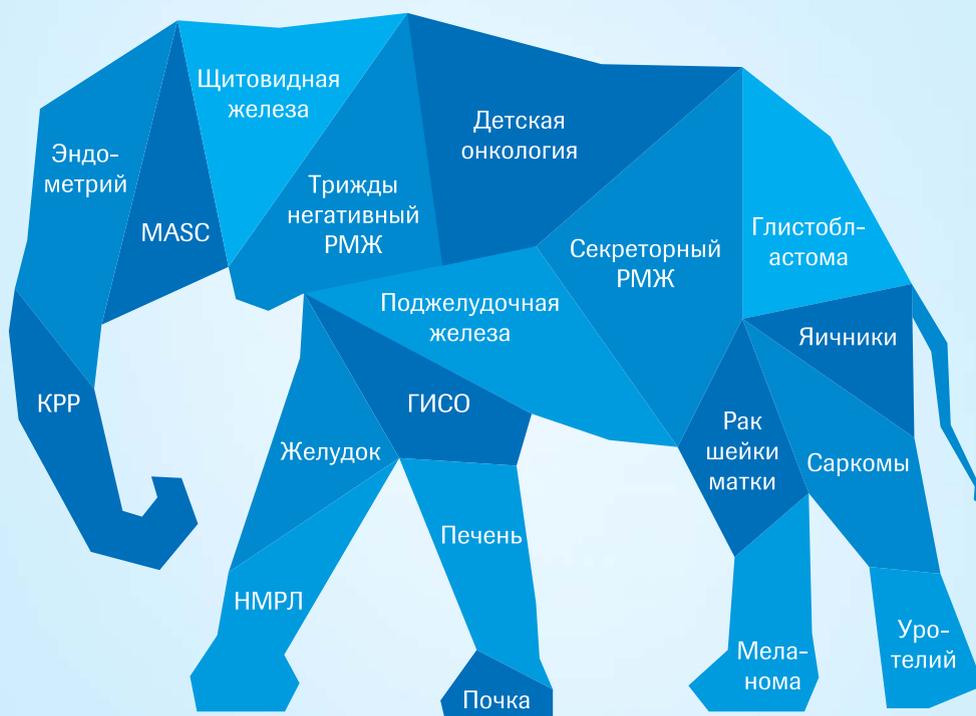
Наш фактический адрес: 127238 Москва, Дмитровское ш., д.46, к.2

Наш почтовый адрес: 127238, г. Москва, а/я 54

*Ждем Вас в числе наших подписчиков!*

— Привет, я **RocheVoice**,  
Ваш персональный информационный помощник!

**Транслокации с участием генов NTRK были выявлены  
более чем в 25 различных типах солидных опухолей  
у взрослых и детей<sup>1</sup>**



NTRK тестирование может быть рекомендовано для любых местнораспространенных или метастатических солидных опухолей, особенно у молодых пациентов и при отсутствии других мутаций<sup>2</sup>

Хочу узнать  
подробнее!

Свяжитесь со службой медицинской информации **medinfo.roche.ru**

1. Okamura R et al. JCO Precis Oncol 2018;2018:1-20. 2. Marchio C. et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. Annals of Oncology 0: 1-11, 2019  
Информация предназначена для медицинских работников.

АО «Рош-Москва», 107045, Россия, г. Москва, Трубная площадь, дом 2, помещение I, этаж 1, комната 42. МФК «Галерея Неглинная» Тел.: +7 (495) 229-29-99 [www.roche.ru](http://www.roche.ru)

# ВСЁ



## ДЛЯ ПАТО- МОРФОЛОГИИ\*

- Подготовка гистологических препаратов
- Иммуногистохимия
- Молекулярная онкология
- Цифровая патология и телемедицина
- Микроскопическое исследование
- Жидкостная цитология
- Специализированная мебель для создания лабораторного пространства

**Оборудование**  
для автоматизации  
каждого этапа

**Оригинальные реагенты**  
и расходные материалы

**Программное обеспечение**  
для всех ключевых этапов

\* Ассортимент предлагаемой продукции предназначен для использования на всех ключевых этапах патоморфологического исследования.

\*\* Некоторые позиции доступны только для научных исследований. Подробности уточняйте в отделах продаж ООО «БиоЛайн»



группа компаний

**ООО «БиоЛайн»**  
197046, Россия,  
Санкт-Петербург  
пер. Пинский, д. 3, лит. А  
тел.: +7 (812) 320 49 49  
факс: +7 (812) 320 49 40  
e-mail: main@bioline.ru  
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40  
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63  
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49  
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47  
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32  
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88  
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767

Единый бесплатный  
номер сервисной  
службы для всех  
регионов России:

8 800 333 00 49

реклама