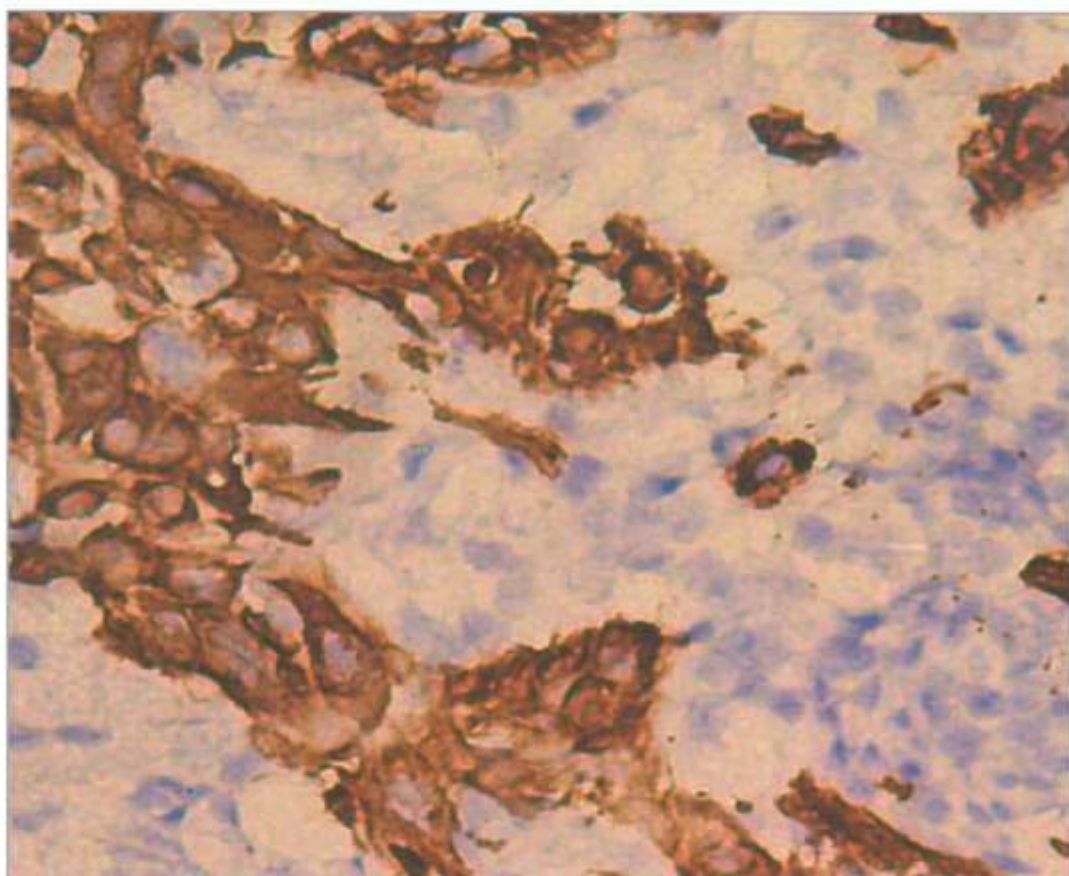


АРХИВ ПАТОЛОГИИ ARKHIV PATOLOGII



3

2022 Том 84

Основан в 1935 г.

Российская академия наук

Российское общество патологоанатомов

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

«Arkhir 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:

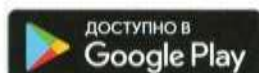
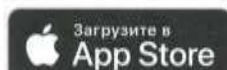
127238 Москва, а/я 54, Медиа Сфера
Отдел рекламы: (495) 482-0604
E-mail: reklama@mediasphera.ru
Отдел подписки: (495) 482-5336
E-mail: zakaz@mediasphera.ru

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: Е.М. Кулыгина

Рис. на обложке к статье В.С. Сидорина и соавт. «Хордома как нейрохирургическая патология»



Подписной индекс по каталогу «Почты России» ПП1289

Подписано в печать 25.05.2022
Формат 60×90 1/8. Тираж 2000 экз.
Усл. печ. л. 10,5. Заказ 22-Z-0632
Отпечатано в ООО «МЕДИКОЛОРИ»

АРХИВ ПАТОЛОГИИ ARKHIV PATOLOGII

Том 84

май—июнь

3'2022

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.

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)

В. Ениш (Берлин, ФРГ)

Д.Д. Зербино (Львов, Украина)

Ю.Р. Зюзя (Москва)

А. Кваас (Кельн, ФРГ)

А.Г. Коршунов (Гейдельберг, ФРГ)

К. Лапиш (Будапешт, Венгрия)

А. Лломбарт-Бош (Барселона,

Испания)

Б.А. Магруппов (Ташкент, Узбекистан)

Б. Натвани (Лос-Анджелес, США)

Ю.Н. Соловьев (Москва)

В.А. Туманский (Запорожье, Украина)

Д. Хармс (Киль, ФРГ)

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 «Arkhiv
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
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
Subscription department:
Phone: 7 (495) 482-5336
E-mail: zakaz@mediasphera.ru

Address of the Editorial Office:

12, Polikarpov St., Moscow 125284
Phone: 7 (495) 946-0217
E-mail: arh.pat@gmail.com
Managing Editor: I.N. Sokolova



Download on the
App Store



GET IT ON
Google Play

ARKHIV PATOLOGII

ARCHIVE OF PATHOLOGY

Volume 84

May—June

3'2022

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. Zayratyants, MD
Prof. A.A. Ivanov, MD
L.V. Kakturskiy, 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
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)	B.A. Magrupov (Tashkent, Uzbekistan)
V. Enisch (Berlin, FRG)	B. Nathwani (Los Angeles, USA)
D.D. Zerbino (Lvov, Ukraine)	Yu.N. Solovyev (Moscow)
Yu.R. Zyuzya (Moscow)	V.A. Tumansky (Zaporozhye, Ukraine)
A. Kvaas (Cologne, FRG)	D. Harms (Kiel, FRG)
A.G. Korshunov (Heidelberg, FRG)	
K. Lapis (Budapest, Hungary)	
A. Llombart-Bosch (Barcelona, Spain)	

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. 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

<i>Родионов В.Э., Авдалян А.М., Коновалов Д.М., Борискин Н.В., Тюрин И.Н., Проценко Д.Н., Зайратьянц О.В., Филипенко М.Л., Оскорбин И.П., Корюков М.А.</i> Особенности клеточного состава воспалительного инфильтрата в разные фазы диффузного альвеолярного повреждения легких при COVID-19	5
<i>Мухамадияров Р.А., Кошелев В.А., Фролов А.В., Миронов А.В., Шабает А.Р., Евтушенко А.В., Ляпин А.А., Кутихин А.Г.</i> Ультраструктура неопитимы нативных и искусственных элементов системы кровообращения	14
<i>Сидорин В.С., Ефимов А.В., Стрелкина К.А., Соколова Т.В., Орлов А.Ю., Забродская Ю.М.</i> Хордома как нейрохирургическая патология	24

В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ

<i>Севергина Л.О., Кисляков Д.А., Коровин И.А., Сорокин Н.И.</i> Интерпретация биопсийного материала после трансуретральной и лазерной резекции единым блоком немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря	32
<i>Рыжова М.В., Галстян С.А., Тельшева Е.Н., Шайхаев Е.Г., Снигирева Г.П., Горельшев С.К., Кадыров Ш.У., Шиманский В.Н., Шугай С.В., Панина Т.Н.</i> Саркомы центральной нервной системы. Клинические наблюдения	40
<i>Лищук С.В., Дубова Е.А., Павлов К.А.</i> Первичная амилоидоза головного мозга	48
<i>Должанский О.В., Гуревич Л.Е., Базаров Д.В.</i> Зрелая тератома переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента и признаками фокального незидиобластоза	52
<i>Гаппов С.В., Хоржевский В.А., Кириченко А.К., Алымова Е.В., Вершинин И.В., Левкович Л.Г.</i> Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки	60

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

<i>Рыжова М.В., Галстян С.А., Тельшева Е.Н.</i> Значение оценки метилирования ДНК в морфологической диагностике опухолей ЦНС	65
<i>Чулкова С.В., Логинов В.И., Подлужный Д.В., Егорова А.В., Сыкова А.Ю., Семичев Д.Г., Гладилина И.А., Кудашкин Н.Е.</i> Роль молекулярно-генетических факторов в развитии холангиоцеллюлярного рака	76

ORIGINAL INVESTIGATIONS

<i>Rodionov V.E., Avdalyan A.M., Konovalov D.M., Boriskin N.V., Tyurin I.N., Protsenko D.N., Zayratyants O.V., Filipenko M.L., Oskorbin I.P., Koryukov M.A.</i> Features of the cell composition of inflammatory infiltrate in different phases of diffuse alveolar lung damage with COVID-19	5
<i>Mukhamadiyarov R.A., Koshelev V.A., Frolov A.V., Mironov A.V., Shabaev A.R., Evtushenko A.V., Lyapin A.A., Kutikhin A.G.</i> Ultrastructure of neointima of native and artificial elements of the blood circulatory system	14
<i>Sidorin V.S., Efimov A.V., Strelkina K.A., Sokolova T.V., Orlov A.Yu., Zabrodskaya Yu.M.</i> Chordoma as a neurosurgical pathology	24

GUIDELINES FOR THE PRACTITIONER

<i>Severgina L.O., Kislyakov D.A., Korovin I.A., Sorokin N.I.</i> Interpretation of biopsy material after transurethral and laser en bloc resection of non-muscle-invasive bladder cancer	32
<i>Ryzhova M.V., Galstyan S.A., Telysheva E.N., Shaikhaev E.G., Snigireva G.P., Gorelyshev S.K., Kadyrov Sh.U., Shimanskiy V.N., Shugay S.V., Panina T.N.</i> Sarcomas of the central nervous system. Clinical observations	40
<i>Lishchuk S.V., Dubova E.A., Pavlov K.A.</i> Primary amyloidoma of the brain	48
<i>Dolzanskij O.V., Gurevich L.E., Bazarov D.V.</i> Mature teratoma of the anterior mediastinum with a predominance of the pancreatic component and signs of focal nesidioblastosis	52
<i>Gappoev S.V., Khorzhevskii V.A., Kirichenko A.K., Alymova E.V., Vershinin I.V., Levkovich L.G.</i> Thyroid-like follicular carcinoma of the kidney	60

REVIEWS OF LITERATURE

<i>Ryzhova M.V., Galstyan S.A., Telysheva E.N.</i> Significance of DNA methylation assessment in the morphological diagnosis of brain tumours	65
<i>Chulkova S.V., Loginov V.I., Podluzhnyi D.V., Egorova A.V., Syskova A.Yu., Semichev D.G., Gladilina I.A., Kudashkin N.E.</i> The role of molecular genetic factors in the development of cholangiocellular carcinoma	76

Особенности клеточного состава воспалительного инфильтрата в разные фазы диффузного альвеолярного повреждения легких при COVID-19

© В.Э. РОДИОНОВ^{1,2}, А.М. АВДАЛЯН^{1,3}, Д.М. КОНОВАЛОВ^{1,4,5}, Н.В. БОРИСКИН¹, И.Н. ТЮРИН¹, Д.Н. ПРОЦЕНКО^{1,6}, О.В. ЗАЙРАТЬЯНЦ^{3,7}, М.Л. ФИЛИПЕНКО⁸, И.П. ОСКОРБИН⁸, М.А. КОРЮКОВ⁸

¹ГБУЗ Москвы «ММКС "Коммунарка" Департамента здравоохранения Москвы», Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия;

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

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия;

⁵ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

⁶ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

⁷ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия;

⁸ФГБУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия

РЕЗЮМЕ

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) при COVID-19 отличается худшим прогнозом по сравнению с ОРДС при других заболеваниях. Летальность от ОРДС при COVID-19 составляет 26,0–61,5%, а обусловленная другими причинами, — 35,3–37,2%.

Цель исследования. Определение соотношения полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПЯЛ), лимфоцитов и макрофагов в клеточном составе воспалительного инфильтрата в разные стадии и фазы диффузного альвеолярного повреждения (ДАП) при COVID-19 на материале аутопсий.

Материал и методы. Исследована ткань легких 25 умерших от острой дыхательной недостаточности вследствие развития ОРДС при COVID-19 без вторичной бактериальной или микотической инфекции, а также при другой танатологически значимой патологии легких. Для изучения клеточного состава воспалительного инфильтрата и динамики его изменений использовали метод двойного иммуногистохимического исследования экспрессии антител к CD15, CD3 и CD68.

Результаты. Установлено, что воспалительный инфильтрат и интраальвеолярный экссудат в экссудативной фазе ДАП имеет следующий клеточный состав: 56,8% ПЯЛ (CD15-позитивные клетки; здесь и далее — среднее значение процентного отношения позитивных клеток к общему количеству клеток воспалительного инфильтрата), 6,9% лимфоцитов (CD3-позитивные клетки) и 19,5% макрофагов (CD68-позитивные клетки). При ранней стадии пролиферативной фазы выявлено 14,1% ПЯЛ, 38,7% лимфоцитов и 13,5% макрофагов; при поздней стадии пролиферативной фазы — 11,3% ПЯЛ, 14,5% лимфоцитов и 39,3% макрофагов.

Заключение. В экссудативной фазе ДАП выявлено статистически значимое преобладание ПЯЛ, что могло определять основной объем поражения легких и тяжесть течения ОРДС при COVID-19. Ранняя стадия пролиферативной фазы ДАП характеризуется статистически значимым изменением состава воспалительного инфильтрата по сравнению с экссудативной фазой в виде существенного уменьшения содержания ПЯЛ относительно общего количества клеток воспалительного инфильтрата; увеличением числа лимфоцитов, что, вероятно, связано с началом процессов организации и репарации. Поздняя стадия пролиферативной фазы ДАП по сравнению с ее ранней стадией отличается статистически значимым увеличением количества макрофагов в относительных показателях.

Ключевые слова: COVID-19, острый респираторный дистресс-синдром, диффузное альвеолярное повреждение, иммуногистохимия, полиморфно-ядерные лейкоциты, лимфоциты, макрофаги.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Родионов В.Э. — <https://orcid.org/0000-0003-0842-4169>

Авдалян А.М. — <https://orcid.org/0000-0002-2229-1713>

Коновалов Д.М. — <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Борискин Н.В. — <https://orcid.org/0000-0002-4774-7115>

Тюрин И.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-5696-1586>

Проценко Д.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-5166-3280>

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

Филипенко М.Л. — <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>

Оскорбин И.П. — <https://orcid.org/0000-0003-3754-5824>

Корюков М.А. — <https://orcid.org/0000-0003-0223-7303>

Автор, ответственный за переписку: Зайратьянц О.В. — e-mail: ovzair@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Родионов В.Э., Авдалян А.М., Коновалов Д.М., Борискин Н.В., Тюрин И.Н., Проценко Д.Н., Зайратьянц О.В., Филипенко М.Л., Оскорбин И.П., Корюков М.А. Особенности клеточного состава воспалительного инфильтрата в разные фазы диффузного альвеолярного повреждения легких при COVID-19. *Архив патологии*. 2022;84(3):5–13. <https://doi.org/10.17116/patol2022840315>

Features of the cell composition of inflammatory infiltrate in different phases of diffuse alveolar lung damage with COVID-19

© V.E. RODIONOV^{1,2}, A.M. AVDALYAN^{1,3}, D.M. KONOVALOV^{2,4,5}, N.V. BORISKIN¹, I.N. TYURIN¹, D.N. PROTSENKO^{1,6}, O.V. ZAYRATYANTS^{1,7}, M.L. FILIPENKO⁸, I.P. OSKORBIN⁸, M.A. KORYUKOV⁸

¹Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka» of Moscow Healthcare department, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

³A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

⁴Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

⁵Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

⁶N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

⁷Acad. A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia;

⁸Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Background. Acute respiratory distress syndrome (ARDS) with COVID-19 has a worse prognosis than ARDS with other diseases. Mortality from ARDS with COVID-19 is 26.0 — 61.5%, and due to other causes — 35.3—37.2%.

Objective. To find of the correlation between polymorphonuclear leukocytes (PMNs), lymphocytes, and macrophages in the cellular composition of the inflammatory infiltrate at different stages and phases of diffuse alveolar damage (DAD) with COVID-19, analyzing the autopsy material.

Material and methods. The lung tissue of 25 patients who died from ARDS with COVID-19 without a secondary bacterial or mycotic infection, another thanatologically significant pathology of the lungs, was studied. To study the cellular composition of the inflammatory infiltrate and the dynamics of its changes a double immunohistochemical analysis of the expression of antibodies to CD15, CD3, and CD68 was used.

Results. The inflammatory infiltrate and intraalveolar exudate in the exudative phase of DAD was represented by 56.8% of PMNs (CD15-positive cells; hereinafter — the average value of the percentage of positive cells to the total number of cells of the inflammatory infiltrate), 6.9% — lymphocytes (CD3-positive cells) and 19.5% macrophages (CD68-positive cells). In the early stage of the proliferative phase: 14.1% PMNs, 38.7% lymphocytes and 13.5% macrophages. In the late stage of the proliferative phase: 11.3% PMNs, 14.5% lymphocytes and 39.3% macrophages.

Conclusions. In the exudative phase of DAD a statistically significant predominance of PMN was revealed, which could determine the main volume of lung damage and the severity of ARDS with COVID-19. In the early stage of the proliferative phase of DAD, a statistically significant change in the composition of the inflammatory infiltrate was revealed to compare with the exudative phase: a significant decrease in the content of PMNs relative to the total number of cells in the inflammatory infiltrate; an increase in the number of lymphocytes, which is probably associated with the start of organization and repair processes. In the late stage of the proliferative phase of DAD, compared with its early stage, was revealed a statistically significant increase in the number of macrophages in ratio.

Keywords: COVID-19, acute respiratory distress syndrome, diffuse alveolar damage, immunohistochemistry, polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes, macrophages.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Rodionov V.E. — <https://orcid.org/0000-0003-0842-4169>

Avdalyan A.M. — <https://orcid.org/0000-0002-2229-1713>

Kononov D.M. — <https://orcid.org/0000-0001-7732-8184>

Boriskin N.V. — <https://orcid.org/0000-0002-4774-7115>

Tyurin I.N. — <https://orcid.org/0000-0002-5696-1586>

Protsenko D.N. — <https://orcid.org/0000-0002-5166-3280>

Zayratyants O.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3606-3823>

Filipenko M.L. — <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>

Oskorbin I.P. — <https://orcid.org/0000-0003-3754-5824>

Koryukov M.A. — <https://orcid.org/0000-0003-0223-7303>

Corresponding author: Zairat'yants O.V. — e-mail: ovzair@mail.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Rodionov VE, Avdalyan AM, Kononov DM, Boriskin NV, Tyurin IN, Protsenko DN, Zayratyants OV, Filipenko ML, Oskorbin IP, Koryukov MA. Features of the cell composition of inflammatory infiltrate in different phases of diffuse alveolar lung damage with COVID-19. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):5–13. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2022840315>

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) при COVID-19 отличается худшим прогнозом по сравнению с ОРДС при других заболеваниях. Летальность от ОРДС при COVID-19 составляет 26,0—61,5%, а обусловленная другими причинами, — 35,3—37,2% [1].

Патогенез ОРДС, в том числе при COVID-19, недостаточно ясен ввиду сложного взаимодействия многих патогенетических факторов [2, 3]. Установлено, что воздействие на ткань легкого любого выраженного повреждающего фактора приводит к развитию во многом стереотипных

патологических изменений альвеолярно-капиллярного комплекса [4]. Выявлено, что морфологическим субстратом такого клинического состояния, как ОРДС, является диффузное альвеолярное повреждение (ДАП), причем при COVID-19 его особенностями являются дисхрония и пролонгация фаз развития ДАП, вовлечение в патологический процесс сосудистого русла легких и развитие альвеолярно-геморрагического синдрома [5–9]. Изучение клеточного состава воспалительного инфильтрата в ткани легких в разные фазы ДАП при COVID-19 позволит улучшить понимание патогенеза новой коронавирусной инфекции и свойственного ей ОРДС, а также особенностей повреждения легких при других вирусных инфекциях.

Согласно классическим представлениям, принято различать две фазы ДАП: экссудативную (раннюю) и пролиферативную (позднюю). Ряд исследователей классифицируют исход ДАП как его третью фазу — фибротическую [5–10]. Темой дискуссии остается сопоставление клинических стадий ОРДС и морфологических фаз ДАП. В клинической классификации отмечают доклиническую стадию ОРДС, стадию обратимого острого повреждения легких и стадию прогрессирования, которые, вероятно, имеют в своей основе выделяемые морфологически соответственно раннюю и позднюю стадию экссудативной и, возможно, раннюю стадию пролиферативной фазы ДАП [11, 12].

Пусковым механизмом развития ДАП является выделение цитокинов и других биологически активных веществ различными клеточными популяциями альвеол и эндотелием сосудов, что активирует циркулирующие в крови полиморфно-ядерные лейкоциты (ПЯЛ), лимфоциты и моноциты/макрофаги (в том числе альвеолярные макрофаги, лимфоциты и гистиоциты межальвеолярных перегородок). Среди клеток воспалительного инфильтрата ведущее значение в развитии, течении и исходе ДАП принадлежит, как полагают, ПЯЛ, которые, по-видимому, вместе с макрофагами инициируют патологический процесс. Т-лимфоциты, как известно, запускают механизмы адаптивного иммунного ответа, а макрофаги способствуют, помимо инициации и регуляции иммунного ответа, главным образом резорбции экссудата, регенерации, организации и ремоделированию ткани легкого. Аггезия к эндотелию межальвеолярных капилляров и посткапиллярных венул, выход за пределы сосудистого русла, в том числе в просвет альвеол, интра- и экстравазальная дегрануляция и нетоз (апоптоз с формированием сети внеклеточных нитей ДНК) ПЯЛ приводят к повреждению всех компонентов альвеолярно-капиллярного комплекса, повышению проницаемости альвеолярно-капиллярного барьера, что влечет за собой выход белков плазмы и форменных элементов крови в межклеточное пространство и просвет альвеол. Белки плазмы крови, прежде всего фибрин, становятся основой для формирования интраальвеолярных (иногда и интрабронхиальных) гиалиновых мембран. Важную роль в альтерации компонентов альвеолярно-капиллярного комплекса играют также лимфоциты и макрофаги [13–18]. Восстановление ткани легкого начинается уже в пролиферативной фазе ДАП. Характерны элиминация и организация экссудата, усиление воспалительной инфильтрации со сменой ее клеточного состава, пролиферация и плоскоклеточная метаморфоз альвеолоцитов и эпителия бронхов, а также фибробластов межальвеолярных перегородок, активация неоангиогенеза [10]. В исходе ДАП (фибротическая фаза) у части пациентов развиваются карнификация, интерстициальный фиброз легких и некоторые другие изменения [5–10, 17].

Цель исследования — определение соотношения ПЯЛ, лимфоцитов и макрофагов (соответственно CD15-, CD3- и CD68-позитивных клеток) в воспалительном инфильтрате ткани легких в разные фазы ДАП при COVID-19 на материале аутопсий.

Материал и методы

Изучены образцы ткани легких, полученные при 25 аутопсиях умерших от COVID-19. По результатам прижизненного вирусологического исследования назо- и орофарингеальных мазков методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у 22 (88%) пациентов была подтверждена коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2. При посмертном исследовании у всех умерших аналогичным методом ПЦР была подтверждена коронавирусная инфекция COVID-19. Наличие РНК-вируса SARS-CoV-2 в ткани легкого было установлено во всех наблюдениях на основании результатов ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени из парафиновых гистологических блоков. Вторичная бактериальная или микотическая инфекция была исключена после посмертного бактериологического исследования мазка из ткани легкого и патогистологически. Возраст умерших 14 мужчин и 11 женщин составил от 41 года до 88 лет (медиана 63 года); длительность заболевания — от 5 до 44 сут (медиана 19 сут); продолжительность госпитализации — от 1 до 40 сут (медиана 14 сут). У 22 (88%) пациентов проводилась искусственная вентиляция легких продолжительностью от 1 до 40 сут (медиана 7 сут). У большей части умерших диагностированы коморбидные заболевания, среди которых наиболее часто встречались хронические формы ишемической болезни сердца (постинфарктный кардиосклероз и ишемическая кардиомиопатия — 24%), сахарный диабет 2-го типа (20%) и гипертоническая болезнь с поражением сердца и почек (12%) (табл. 1). В изученных наблюдениях отсутствовала танатологически значимая патология легких другой этиологии. Непосредственной причиной смерти всех больных явилась острая дыхательная недостаточность вследствие развития ОРДС.

Патолого-анатомическое вскрытие проводили не позднее 24 ч после констатации биологической смерти пациентов. Изъятые от 4 до 6 фрагментов ткани легких фиксировали в забуференном 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч при температуре 4–5 °C, после чего рутинным методом с использованием заливки в парафин изготавливали серийные гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Патолого-анатомические исследования проводили, строго соблюдая принципы биобезопасности [19–22].

Для выполнения ОТ-ПЦР в реальном времени выделение РНК из парафиновых гистологических блоков проводили с помощью набора High Pure FFPE RNA Isolation Kit (Roche, Швейцария) согласно протоколу производителя. Выделение осуществляли из одиночных гистологических срезов толщиной 10 мкм, концентрацию полученных препаратов РНК измеряли, используя NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы РНК после выделения хранили при –70 °C. ОТ-ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США). Результаты обрабатывали, используя программу CFX Manager (Bio-Rad Laboratories, США).

Иммуногистохимическое исследование проводили с помощью иммунофлуоресценции Ventana BenchMark Ultra

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Table 1. Clinical characteristics of patients

Характеристика	Показатель
Пол:	
мужской	14
женский	11
Возраст, лет	63 (41–88)*
Положительный результат прижизненного вирусологического исследования нazo- и орофарингеального мазка на наличие вируса SARS-CoV-2 (%)	22 (88)
Положительный результат ПЦР-теста на SARS-CoV-2 в аутопсийном материале (%)	25 (100)
Длительность заболевания (от появления первых симптомов до летального исхода), сут	19 (5–44)*
Продолжительность госпитализации, сут	14 (1–40)*
Продолжительность искусственной вентиляции легких у 22 из 25 умерших, сут	7 (1–40)*
Коморбидные заболевания:	
хронические формы ишемической болезни сердца (постинфарктный кардиосклероз и ишемическая кардиомиопатия) (%)	* 6 (24)
сахарный диабет 2-го типа (%)	5 (20)
гипертоническая болезнь (%)	3 (12)
лимфомы, лейкозы (%)	2 (8)
злокачественные новообразования (%)	1 (4)
хроническая ишемия головного мозга (%)	1 (4)
ожирение (%)	1 (4)

Примечание. * — медиана (минимум–максимум) для количественных переменных с нормальным распределением.

Таблица 2. Количество CD3-, CD15- и CD68-позитивных клеток в воспалительном инфильтрате в разные стадии и фазы ДАП при COVID-19

Table 2. The number of CD3, CD15 and CD68 — positive cells in the inflammatory infiltrate at different stages and phases of DAD with COVID-19

Фаза ДАП	CD3+		CD15+		CD68+		Другие клетки воспалительного инфильтрата	
	абс. Me (R)	% M (min — max)*	абс. Me (R)	% M (min — max)*	абс. Me (R)	% M (min — max)*	абс. Me (R)	% M (min — max)*
Экссудативная	62 (51)	6,9 (3,4–13,5)	514 (766)	56,8 (37,9–71,8)	185 (164)	19,5 (9,4–31,0)	151 (156)	17,6 (9,7–22,1)
Ранняя стадия пролиферативной фазы	117 (87)	38,7 (24,3–49,5)	42 (33)	14,1 (6,4–21,67)	34 (27)	13,5 (7,6–25,1)	85 (143)	33,7 (23,2–59,9)
Поздняя стадия пролиферативной фазы	77 (53)	14,5 (10,0–18,3)	55 (23)	11,3 (7,2–13,7)	186 (217)	39,3 (33,3–49,5)	180 (83)	35,0 (30,1–45,1)

Примечание. Me — медиана; R — размах; M — среднее арифметическое значение; * — результаты указаны в виде среднего арифметического от абсолютного количества CD3-, CD15-, CD68-позитивных клеток и других клеток воспалительного инфильтрата и процентного отношения к общему количеству клеток в инфильтрате в каждом наблюдении.

и антител к гранулоцитам CD15 (MMA), лимфоцитам CD3 (2GV6), макрофагам CD68 (KP-1). Для оценки соотношения между ПЯЛ, лимфоцитами и макрофагами использовали метод двойного (синхронного) иммуногистохимического окрашивания с определением экспрессии одновременно к парам маркеров CD3 и CD15; CD15 и CD68 с хромогенами красного и коричневого цветов.

Соотношение CD15-, CD3- и CD68-позитивных клеток в разные фазы ДАП рассчитывали как среднее арифметическое процентного соотношения CD15-, CD3- и CD68-позитивных клеток к общему количеству клеток воспалительного инфильтрата в 10 случайно отобранных полях зрения в 10 гистологических препаратах при увеличении микроскопа в 200 раз.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel-2020

для подсчета относительных величин и IBM® SPSS Statistics для обработки абсолютных величин. Для установления значимости различий между несколькими группами по количественным признакам использовали критерий Краскела—Уоллиса с последующим применением критерия Манна—Уитни для апостериорного попарного сравнения.

Результаты

Морфологические признаки ДАП были выявлены у всех умерших от COVID-19. Воспалительный инфильтрат разной степени интенсивности был представлен неодинаковым количеством ПЯЛ, лимфоцитов, макрофагов и других клеток. Во всех наблюдениях в различных участках легких обнаружено сочетание стадий экссудативной и пролиферативной фаз ДАП.

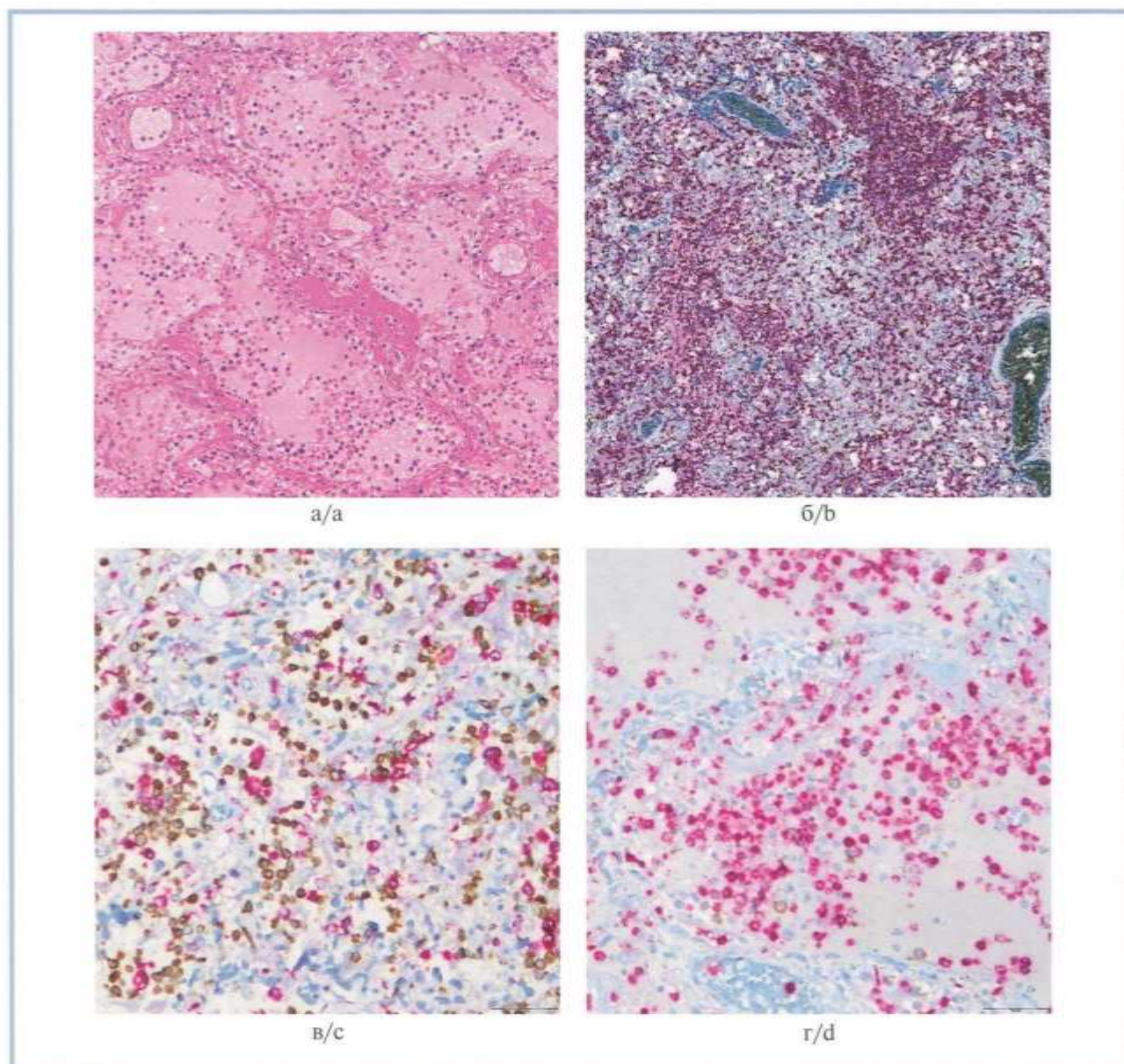


Рис. 1. Экссудативная фаза ДАП при COVID-19.

а — описание в тексте, окраска гематоксилином и эозином; б—г — преобладание в воспалительном инфильтрате и интраальвеолярном экссудате ПЯЛ (CD15-позитивных клеток), иммуногистохимическое исследование с антителами к CD3 (коричневый хромоген) и CD15 (красный хромоген). а, б — $\times 100$, в, г — $\times 200$.

Fig. 1. Exudative phase of DAD with COVID-19.

а — description in the text, H&E; б—д — predominance of PMNs (CD15-positive cells) in the inflammatory infiltrate and intraalveolar exudate, immunohistochemical study with antibodies to CD3 (brown chromogen) and CD15 (red chromogen). а, б — $\times 100$, в, г — $\times 200$.

Для экссудативной фазы ДАП (рис. 1, а), преобладавшей в 12 (48%) наблюдениях, были характерны интраальвеолярные отек и гиалиновые мембраны, отек межальвеолярных перегородок, альвеолярно-геморрагический синдром. В просвете альвеол наблюдались группы ПЯЛ. Микроангиопатия характеризовалась повреждением эндотелия, выраженным полнокровием, стазами и сладжами эритроцитов, множественными фибриновыми тромбами. Выявлена выраженная адгезия ПЯЛ к эндотелию микроциркуляторного сосудистого русла (феномен «краевого стояния»). Отмечалась слабовыраженная лейкоцитарная с примесью лимфоцитов и макрофагов вос-

палительная инфильтрация — периваскулярная, перибронхиальная и в межальвеолярных перегородках, характерная для ДАП [5—10, 23]. При иммуногистохимическом исследовании клеточный состав воспалительного инфильтрата и интраальвеолярного экссудата был представлен преимущественно ПЯЛ (CD15-позитивные клетки), которые составляли 56,8% от общего числа клеток инфильтрата, и в меньшей степени — CD3-позитивными клетками (6,9%) и CD68-позитивными клетками (19,5%) (рис. 1, б—г; табл. 2).

Для ранней стадии пролиферативной фазы ДАП (рис. 2, а), преобладавшей в 7 (28%) наблюдениях, по сравнению

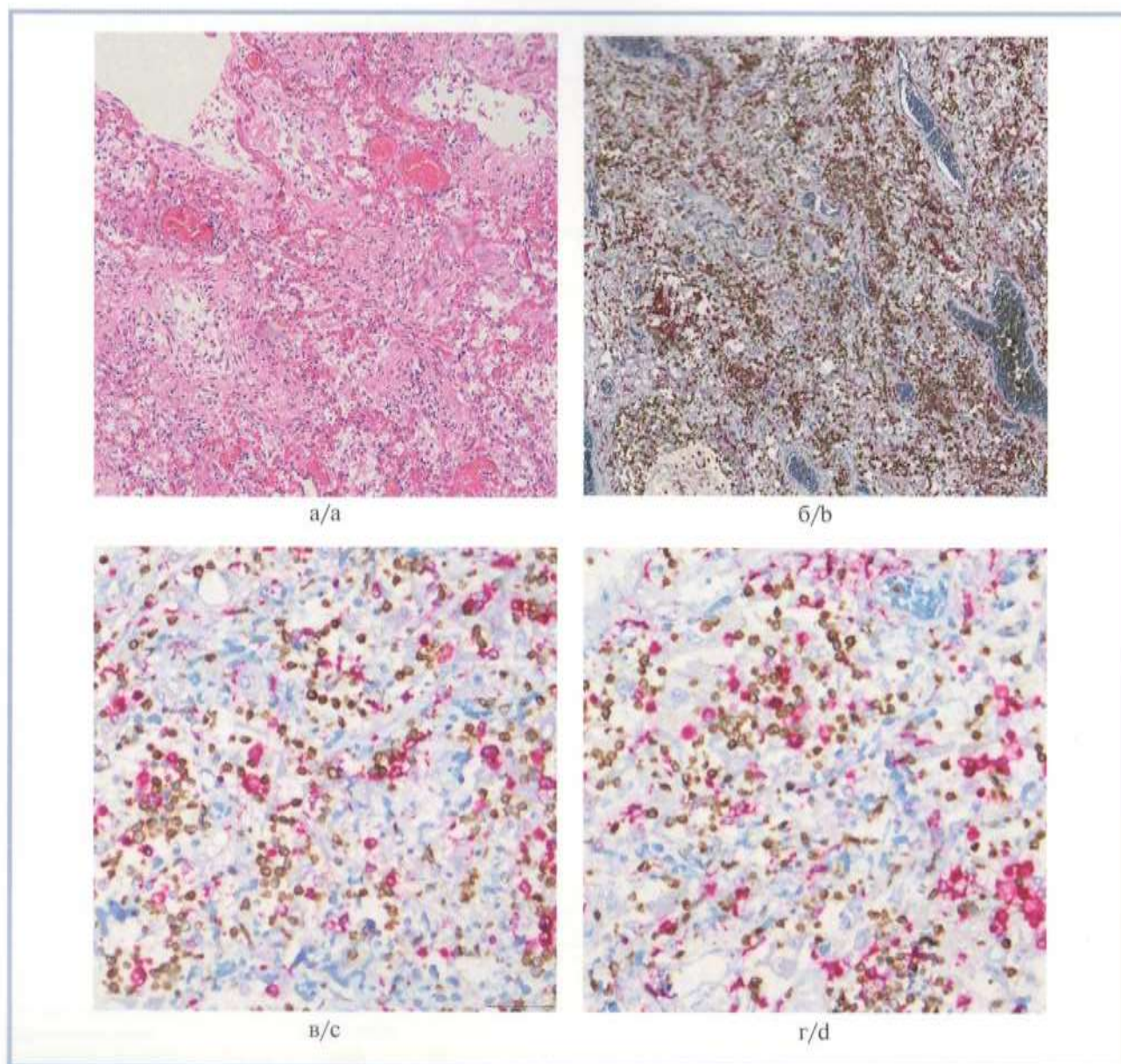


Рис. 2. Ранняя стадия пролиферативной фазы ДАП при COVID-19.

а — объяснение в тексте; окраска гематоксилином и эозином; б—г — преобладание в воспалительном инфильтрате и интраальвеолярном экссудате лимфоцитов (CD3-позитивных клеток), иммуногистохимическое исследование с антителами к CD3 (коричневый хромоген) и CD15 (красный хромоген). а, б — $\times 100$, в, г — $\times 200$.

Fig. 2. Early stage of the proliferative phase of DAD with COVID-19.

а — description in the text, H&E; б—d — predominance of lymphocytes (CD3-positive cells) in the inflammatory infiltrate and intraalveolar exudate, immunohistochemical study with antibodies to CD3 (brown chromogen) and CD15 (red chromogen). а, б — $\times 100$, в, г — $\times 200$.

с экссудативной фазой были характерны уменьшение интраальвеолярного отека и кровоизлияний, преимущественно мононуклеарный воспалительный инфильтрат в межалвеолярных перегородках и периваскулярно, мукоидный отек межалвеолярных перегородок, гипертрофия и гиперплазия альвеолоцитов II типа, иногда с формированием уродливой формы многоядерных симпластов, появление фибробластов в просвете альвеол с начальными признаками карнификации. Сохранялась микроангиопатия с фибриновыми тромбами, но появлялись очаги неоваскуляризации. В воспалительном инфильтрате, который был более выраженным, а также интраальвеолярно уменьшалось

число ПЯЛ и увеличивалось количество мононуклеарных клеток [5—10]. При иммуногистохимическом исследовании 38,7% клеток воспалительного инфильтрата и интраальвеолярного экссудата составляли CD3-позитивные клетки (лимфоциты); 14,1% — CD15-позитивные клетки (ПЯЛ) и 13,5% — CD68-позитивные клетки (макрофаги) (рис. 2, б—г; см. табл. 2).

Для поздней стадии пролиферативной фазы ДАП (рис. 3, а), преобладавшей в 6 (24%) наблюдениях, были характерны проявления карнификации, множественные очаги слабовыраженного интерстициального фиброза легких, усиление воспалительной мононуклеарной инфильтрации

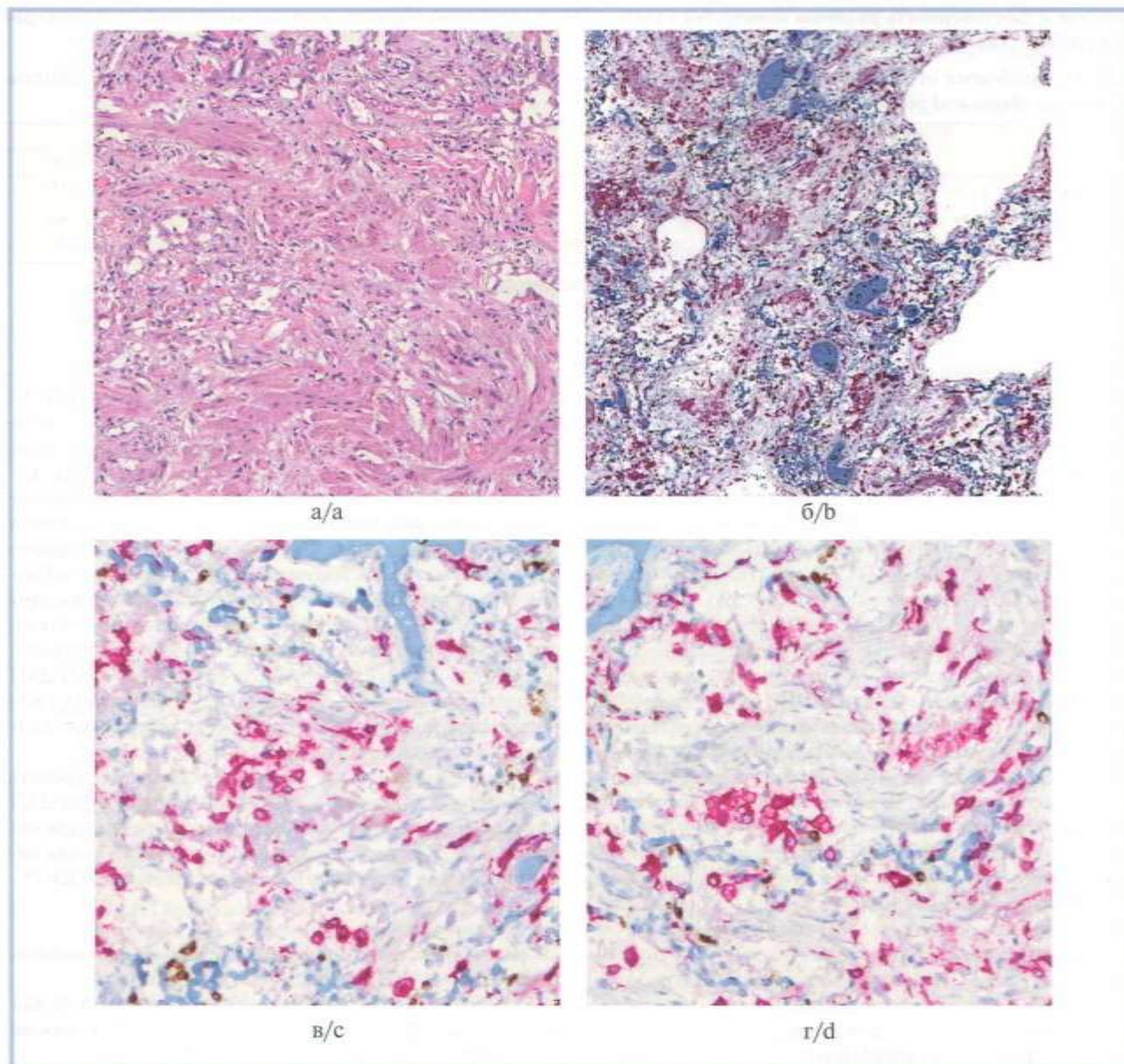


Рис. 3. Поздняя стадия пролиферативной фазы ДАП при COVID-19.

а — описание в тексте; окраска гематоксилином и эозином; б–г — преобладание в воспалительном инфильтрате и просвете альвеол макрофагов (CD68-положительных клеток), иммуногистохимическое исследование с антителами к CD15 (коричневый хромоген) и CD68 (красный хромоген). а, б — $\times 100$, в, г — $\times 200$.

Fig 3. Late stage of the proliferative phase DAD with COVID-19.

а — description in the text, H&E; б–д — predominance of macrophages (CD68-positive cells) in the inflammatory infiltrate and in alveoli; immunohistochemical study with antibodies to CD15 (brown chromogen) and CD68 (red chromogen). а, б — $\times 100$, с, д — $\times 200$.

периваскулярной, перибронхиальной и межальвеолярных перегородок [5–10, 17]. При иммуногистохимическом исследовании 14,5% клеток инфильтрата составляли CD3-положительные клетки (лимфоциты); 11,3% — CD15-положительные клетки (ПЯЛ) и 39,3% — CD68-положительные клетки (макрофаги), большая часть которых локализовалась интраальвеолярно (рис. 3, б–г; см. табл. 2).

При статистическом анализе (табл. 3) тест Краскела–Уоллиса показал статистически значимые различия количества CD3-, CD15-, CD68-положительных клеток ($p=0,006$; $p=0,000$; $p=0,001$ соответственно) при сравнении экссудативной и ранней стадии пролиферативной фазы ДАП;

для CD68-положительных клеток ($p=0,004$) при сравнении ранней и поздней стадии пролиферативной фазы ДАП; и для CD15-положительных клеток ($p=0,034$) при сравнении экссудативной фазы ДАП и поздней стадии пролиферативной фазы ДАП. Динамика изменений других количественных показателей CD3-, CD15-, CD68-положительных клеток, не указанных выше, при сравнении стадий и фаз ДАП была статистически недостоверна.

Таким образом, определение экспрессии CD15 (ПЯЛ), CD3 (лимфоциты) и CD68 (макрофаги) выявило динамику изменения клеточного состава воспалительного инфильтрата в ткани легкого в разные стадии и фазы ДАП

Таблица 3. Достоверность различия количества CD15-, CD3- и CD68-позитивных клеток воспалительного инфильтрата в разные стадии и фазы ДАП при COVID-19**Table 3.** Significance of differences in the numbers of CD15-, CD3- and CD68-positive cells of the inflammatory infiltrate at different stages and phases of DAD with COVID-19

Стадия и фаза ДАП	Достоверность (p)		
	CD3	CD15	CD68
Экссудативная фаза — ранняя стадия пролиферативной фазы	0,006*	0,000*	0,001*
Экссудативная фаза — поздняя стадия пролиферативной фазы	0,555	0,034*	1,000
Ранняя стадия пролиферативной фазы — поздняя стадия пролиферативной фазы	0,433	0,453	0,004*

Примечание. Использован критерий Краскела—Уоллиса, * — статистически значимое различие показателей.

при COVID-19. В экссудативной фазе ДАП выявлено статистически значимое преобладание CD15-позитивных клеток по сравнению с ранней и поздней стадией пролиферативной фазы ДАП ($p=0,000$ и $p=0,034$ соответственно), что совпадает с относительными показателями содержания CD15-позитивных клеток (56,8% в экссудативной фазе против 14,1 и 11,3% в ранней и поздней стадии пролиферативной фазы соответственно). Также выявлено относительно небольшое содержание в воспалительном инфильтрате в экссудативной фазе ДАП CD3-позитивных лимфоцитов (6,9%) и CD68-позитивных клеток (19,5%). При ранней стадии пролиферативной фазы ДАП определялось статистически значимое изменение клеточного состава воспалительного инфильтрата в виде существенного уменьшения числа CD15-позитивных клеток (ПЯЛ) до 14,1% ($p=0,000$) относительно общего количества клеток воспалительного инфильтрата; увеличение CD3-позитивных клеток (лимфоцитов) с 6,9 до 38,7% ($p=0,006$). Несмотря на статистически значимое изменение при этом абсолютного количества CD68-позитивных клеток (макрофагов) ($p=0,001$) при сравнении относительных показателей выраженных изменений не выявлено. При поздней стадии пролиферативной фазы ДАП динамика по сравнению с ее ранней стадией изменения клеточного состава воспалительного инфильтрата была выражена меньше. Выявлено значимое ($p=0,004$) увеличение количества CD68-позитивных клеток (макрофагов) с 13,5 до 39,3% в относительных показателях, что морфологически коррелировало с ремоделированием гиалиновых мембран с развитием карнификации и интерстициального фиброза легкого. Несмотря на изменения относительных показателей содержания ПЯЛ и лимфоцитов (CD15- и CD3-позитивных клеток соответственно) с 14,1 до 11,3% и с 38,7 до 14,5%, динамика их изменений не была статистически достоверной.

Заключение

Количество ПЯЛ, лимфоцитов и макрофагов (CD15-, CD3- и CD68-позитивных клеток соответственно) в составе воспалительного инфильтрата в разные стадии и фазы ДАП при COVID-19 статистически различается. В экссудативной фазе преобладают ПЯЛ (CD15-позитивные клетки), что, вероятно, является пусковым механизмом развития ДАП и, возможно, определяет объем поражения легких и тяжесть течения ОРДС при COVID-19. Ранняя стадия пролиферативной фазы характеризуется преобладанием лимфоцитов (CD3-позитивные клетки), что соответствует началу процессов пролиферации и репарации. При поздней стадии пролиферативной фазы ДАП закономерно выявлено преобладание макрофагов (CD68-позитивные клетки), что коррелирует с процессами организации в ткани легкого.

Полученные данные позволяют объективизировать морфологическую диагностику разных стадий и фаз ДАП при COVID-19 и могут быть полезны для понимания патогенеза ОРДС и разработки лечебно-диагностических мероприятий при различных вариантах течения COVID-19.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — В.Э. Родионов, А.М. Авдальян, И.Н. Тюрин, Д.Н. Проценко;
Сбор и обработка материала — В.Э. Родионов, Д.М. Коновалов, М.Л. Филипенко, И.П. Оскорбин, М.А. Корюков;
Статистическая обработка — Н.В. Борискин;
Написание текста — В.Э. Родионов;
Редактирование — А.М. Авдальян, О.В. Зайратьянц.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Gibson PG, Qin L, Puah SH. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *Med J Aust.* 2020;213(2):54–6.e1. <https://doi.org/10.5694/mja2.50674>
- Tovar JA. The lung and pediatric trauma. *Semin Pediatr Surg.* 2008; 17(1):53–59. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2007.10.008>
- Zhang J, Chu XY, Liu Y, Wang YX. Treatment of 336 cases of chest trauma. *Chin J Traumatol.* 2012;15(3):180–182.
- Muellerbach RM, Kredel M, Zollhoefer B, Johannes A, Kuestermann J, Schuster F, Schwemmer U, Wurmb T, Wunder C, Roewer N, Brederlau J. Acute respiratory distress induced by repeated saline lavage provides stable experimental conditions for 24 hours in pigs. *Exp Lung Res.* 2009;35(3):222–233. <https://doi.org/10.1080/01902140802534975>
- 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. Samsonova MV, Mikhaleva LM, Zairatyants OV, Varyasin VV, Bykanova AV, Mishnev OD, Berезovsky 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/ptol20208204132>

6. Mikhaleva LM, Cherniaev AL, Samsonova MV, Zayratyants OV, Kakturskiy LV, Vasyukova OA, Birukov AE, Kontorshchikov AS, Sorokina AV, Sinelnikov MY. Pathological features in 100 deceased patients with COVID-19 in correlation with clinical and laboratory data. *Pathol Oncol Res.* 2021;27:1609900. <https://doi.org/10.3389/pore.2021.1609900>
7. Самсонова М.В., Черняев А.Л., Омарова Ж.Р., Першина Е.А., Мишнев О.Д., Зайратьянц О.В., Михалева Л.М., Калинин Д.В., Варясин В.В., Тишкевич О.А., Виноградов С.А., Михайличенко К.Ю., Черняк А.В. Особенности патологической анатомии легких при COVID-19. *Пульмонология.* 2020;30(5):519-532. Samsonova MV, Chernyaev AL, Omarova ZhR, Pershina EA, Mishnev OD, Zayratyants OV, Mikhaleva LM, Kalinin DV, Varyasin VV, Tishkevich OA, Vinogradov SA, Mikhaylichenko KYu, Chernyak AV. Features of pathological anatomy of lungs at COVID-19. *Pul'monologiya.* 2020;30(5):519-32. (In Russ.). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2020-30-5-519-532>
8. Зайратьянц О.В., ред. *Патологическая анатомия COVID-19: Атлас.* М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»; 2020;140. Zairat'yants OV, ed. *Patologicheskaya anatomiya COVID-19: Atlas.* Moscow: GBU «NIIOZMM DZM»; 2020;140. (In Russ.). <https://mosgorzdrav.ru/uploads/imperavi/ru-RU/.pdf>
9. Зайратьянц О.В., Малявин А.Г., Самсонова М.В., Черняев А.Л., Мишнев О.Д., Михалева Л.М., Крупнов Н.М., Калинин Д.В. Патоморфологические изменения в легких при COVID-19: клинические и терапевтические параллели. *Терапия.* 2020;6(5):35-46. Zairat'yants OV, Malyavin AG, Samsonova MV, Chernyaev AL, Mishnev OD, Mikhaleva LM, Krupnov NM, Kalinin DV. Patomorfologicheskie izmeneniya v legkikh pri COVID-19: klinicheskoe i terapevicheskie paralleli. *Terapiya.* 2020; 6(5):35-46. (In Russ.). <https://doi.org/10.18565/therapy.2020.5.35-46>
10. Loscalzo J, Longo DL, Fauci AS, Dennis LK, Hauser SL. *Harrison's principles of internal medicine.* 18th ed. McGraw-Hill; 2011.
11. Opdahl H. Acute respiratory failure concomitant with serious disease or injury. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2010;130(2):154-157. <https://doi.org/10.4045/tidsskr.08.0072>
12. Грицан А.И., Ярошешкий А.И., Власенко А.В., Гаврилин С.В., Гельфанд Б.Р., Заболотских И.Б., Еременко А.А., Зильбер А.П., Кассиль В.Л., Киров М.Ю., Колесниченко А.П., Лебединский К.М., Лейдерман И.Н., Мазурок В.А., Мороз В.В., Неймарк М.И., Николаенко Э.М., Проценко Д.Н., Руднов В.А., Садчиков Д.В., Садригдинов М.А., Солодов А.А., Храпов К.Н., Царенко С.В. Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома. Клинические рекомендации ФАР. *Анестезиология и реаниматология.* 2016;61(1):62-70. Gritsan AI, Yaroshetskii AI, Vlasenko AV, Gavrilin SV, Gel'fand BR, Zabolotskikh IB, Eremenko AA, Zil'ber AP, Kassil' VL, Kirov MYu, Kolesnichenko AP, Lebedinskii KM, Leiderman IN, Mazurok VA, Moroz VV, Neimark MI, Nikolaenko EM, Protsenko DN, Rudnov VA, Sadchikov D.V., Sadritdinov MA, Solodov AA, Khrapov KN, Tsarenko SV. Diagnostika i intensivnaya terapiya ostrogo respiratornogo distress-sindroma. Klinicheskie rekomendatsii FAR. *Anesteziologiya i reanimatologiya.* 2016;61(1):62-70. (In Russ.).
13. Franke RP, Gräfe M, Schnittler H, Seiffge D, Mittermayer C, Drenckhahn D. Induction of human vascular endothelial stress fibres by fluid shear stress. *Nature.* 1984;307(5952):648-649. <https://doi.org/10.1038/307648a0>
14. Schlag G, Redl H. Morphology of the microvascular system in shock: lung liver and skeletal muscles. *Crit Care Med.* 1985; 3(12):1045-1049.
15. Ng DL, Al Hosani F, Keating MK, Gerber SI, Jones TL, Metcalfe MG, Tong S, Tao Y, Alami NN, Haynes LM, Mutei MA, Abdel-Wareth L, Uyeki TM, Swerdlow DL, Barakat M, Zaki SR. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal Ccse of middle east respiratory syndrome coronavirus infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am J Pathol.* 2016;186(3):652-658. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.10.024>
16. Idell S. Coagulation, fibrinolysis, and fibrin deposition in acute lung injury. *Crit Care Med.* 2003;31(4 suppl):213-220. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000057846.21303.ab>
17. Ware LB. Pathophysiology of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Semin Respir Crit Care Med.* 2006;27:337. <https://doi.org/10.1055/s-2006-948288>
18. Санитарные правила СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности)». Санитарные правила СП 1.3.3118-13 «Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I—II grupp patogennosti (opasnosti)». (In Russ.).
19. Минздрав СССР, 02.03.1976, №10-8/7 «Инструкция по унификации гистологических и гистохимических методов исследования биопсийного и секционного материала». Minzdrav SSSR, 02.03.1976, №10-8/7 «Instruktsiya po unifikatsii gistologicheskikh i gistokhimicheskikh metodov issledovaniya biopsiynogo i sektionnogo materiala». (In Russ.).
20. «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Временные методические рекомендации Минздрава России (актуальная версия). «Profilaktika, diagnostika i lechenie novoi koronavirusnoi infektsii (COVID-19)» Vremennyye metodicheskie rekomendatsii Minzdrava Rossii (aktual'naya versiya). (In Russ.). https://static-0.rosminzdrav.ru/system/attachments/attach/000/050/584/original/03062020_%D0%9CR_COVID-19_v1-14.pdf
21. Зайратьянц О.В., ред. «Правила работы патологоанатомических отделений при коронавирусной инфекции (COVID-19). Патологическая анатомия COVID-19». Временные методические рекомендации ДЗМ. Версия 2. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»; 2020;44. Zairat'yants OV, ed. «Pravila raboty patologoanatomicheskikh otdelenii pri koronavirusnoi infektsii (COVID-19). Patologicheskaya anatomiya COVID-19». Vremennyye metodicheskie rekomendatsii DZM. Versiya 2. M.: GBU «NIIOZMM DZM»; 2020;44. (In Russ.). <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/science/default/download/673.html>
22. Porter R. *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy.* Rahway, N.J., USA: Merck; 2011.

Поступила 22.02.2022

Received 22.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Ультраструктура неоинтимы нативных и искусственных элементов системы кровообращения

© Р.А. МУХАМАДИЯРОВ, В.А. КОШЕЛЕВ, А.В. ФРОЛОВ, А.В. МИРОНОВ, А.Р. ШАБАЕВ, А.В. ЕВТУШЕНКО, А.А. ЛЯПИН, А.Г. КУТИХИН

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель работы. Выполнить сравнительную оценку строения неоинтимы кондуитов для коронарного шунтирования, биопротезов клапанов сердца и искусственно созданных сосудистых протезов и металлических стентов.

Материал и методы. Объектами исследования послужили участки внутренней грудной артерии человека, экспериментальные биодеградируемые сосудистые протезы, створки ксеноперикардиальных биопротезов клапанов сердца и фрагменты стентированных сосудов. Образцы фиксировали в формалине и постфиксировали в тетраокиси осмия. После обезвоживания в спиртах и ацетоне, заключения в эпоксидную смолу образцы шлифовали и полировали до нужной глубины. Образцы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в сканирующем электронном микроскопе в режиме обратно рассеянных электронов.

Результаты. Во всех образцах обнаружили наличие неоинтимы сходного строения, состоящей из эндотелия, гладкомышечных клеток, фибробластов и внеклеточного матрикса. Эндотелиальный слой демонстрировал большое разнообразие как в составе различных элементов системы кровообращения, так и в пределах одной и той же анатомической структуры. Клетки могли иметь уплощенную либо более округлую форму. Встречались участки эндотелия с адгезированными лейкоцитами. При отсутствии воспаления в поверхностном слое неоинтимы гладкомышечные клетки и волокна были расположены параллельно эндотелию. Кроме гладкомышечных клеток в этом слое присутствовали клетки фибробластического ряда. Вблизи слоев неоинтимы, содержащих твердые включения (металлические стенты или кальциевые депозиты), встречались скопления пенистых клеток. В образцах с утолщенной неоинтимой наблюдали капилляроподобные структуры и настоящие капилляры.

Заключение. Образование неоинтимы является универсальной реакцией организма на повреждение участков элементов кровеносной системы. Сформировавшаяся неоинтима находится в постоянном процессе ремоделирования: изменяется клеточный состав, появляются макрофаги, образуются капилляры и кальциевые депозиты.

Ключевые слова: ультраструктура неоинтимы, кальциевые депозиты, металлические стенты, сосудистые протезы, верхняя грудная артерия, клапаны сердца.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

Кошелев В.А. — e-mail: koshelev.vlad00@mail.ru

Фролов А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-1746-8895>

Миронов А.В. — <https://orcid.org/0000-0003-3718-6008>

Шабает А.Р. — <https://orcid.org/0000-0002-9734-8462>

Евтушенко А.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8475-4667>

Ляпин А.А. — <https://orcid.org/0000-0002-1661-1135>

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

Автор, ответственный за переписку: Мухамадияров Р.А. — e-mail: rem57@rambler.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Мухамадияров Р.А., Кошелев В.А., Фролов А.В., Миронов А.В., Шабает А.Р., Евтушенко А.В., Ляпин А.А., Кутихин А.Г.

Ультраструктура неоинтимы нативных и искусственных элементов системы кровообращения. *Архив патологии*. 2022;84(3):14–23.
<https://doi.org/10.17116/patol20228403114>

Ultrastructure of neointima of native and artificial elements of the blood circulatory system

© R.A. MUKHAMADIYAROV, V.A. KOSHELEV, A.V. FROLOV, A.V. MIRONOV, A.R. SHABAEV, A.V. EVTUSHENKO, A.A. LYAPIN, A.G. KUTIKHIN

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

ABSTRACT

Objective. To compare the neointima structure in conduits for coronary bypass grafting, bioprosthetic heart valves, tissue-engineered vascular grafts, and metal stents.

Material and methods. The objects of the study were the fragments of the human internal thoracic artery, experimental biodegradable vascular prostheses, leaflets of xenopericardial bioprostheses of heart valves, and fragments of stented vessels. Tissue samples were fixed in formalin and post-fixed in osmium tetroxide. After dehydration and epoxy resin embedding, the samples

were ground and polished. Samples were counterstained with uranyl acetate and lead citrate and visualized by means of back-scattered scanning electron microscopy.

Results. Neointimal pattern in all samples was similar. Neointima was comprised of endothelial cells, smooth muscle cells, fibroblasts, and the extracellular matrix. Endothelial cells showed significant diversity both between different elements of the circulatory system and within the same tissue, having either elongated or polygonal shape. Adhesion of leukocytes testified to the endothelial cell activation. In the absence of inflammation in the superficial layer of the neointima, the arrangement of smooth muscle cells and extracellular matrix fibers was parallel to the endothelium. Clusters of foam cells were frequently detected around the neointimal layers with solid inclusions (metal stents or calcium deposits). Thickening of the neointima was accompanied by the presence of capillaries and capillary-like structures.

Conclusion. Neointima formation is a typical response to the damage inflicted to the elements of the circulatory system. Neointima underwent a constant remodeling characterized by an altered cellular composition, macrophage invasion, neovascularization, and calcification.

Keywords: neointima ultrastructure, calcium deposits, metal stents, vascular prostheses, superior thoracic artery, heart valves.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

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

Koshelev V.A. — e-mail: koshelev.vlad00@mail.ru

Frolov A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-1746-8895>

Mironov A.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3718-6008>

Shabaev A.R. — <https://orcid.org/0000-0002-9734-8462>

Evtushenko A.V. — <https://orcid.org/0000-0001-8475-4667>

Lyapin A.A. — <https://orcid.org/0000-0002-1661-1135>

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

Corresponding author: Mukhamadiyarov R.A. — e-mail: rem57@rambler.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Mukhamadiyarov RA, Koshelev VA, Frolov AV, Mironov AV, Shabaev AR, Evtushenko AV, Lyapin AA, Kutikhin AG. Ultrastructure of neointima of native and artificial elements of the blood circulatory system. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):14–23. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403114>

Гистологическое строение неинтимы привлекает внимание исследователей исходя из того, что ее гиперплазия является типичным ответом на повреждение структурных элементов кровеносной системы, что приводит к их гемодинамически значимому стенозированию [1–4]. В образовании неинтимы принимают участие различные типы клеток, обычно это гладкомышечные клетки, фибробласты, миофибробласты и макрофаги [1, 4–6]. От пролиферативной и функциональной активности этих клеток во многом зависит позитивный или негативный сценарий ремоделирования сосудов [6, 7]. Более того, хирургические и малоинвазивные методы реваскуляризации сосудов часто сопровождаются развитием рестеноза. Поэтому гистологические методы оценки находят широкое применение и позволяют получить информацию о текущем состоянии сосудов и спрогнозировать сценарии развития процесса гиперплазии неинтимы [8, 9].

Как правило, строение неинтимы и развитие пролиферации в ответ на воздействие цитокинов, гипоксии, оксидативного стресса и других факторов исследуется на животных моделях с индуцированным хирургическим повреждением сосудов, в то время как ультраструктурных исследований клинического материала в отношении формирования неинтимы выполнено недостаточно [10–13]. Кроме того, имеется очень мало данных о сравнительных исследованиях структуры неинтимы у различных нативных и искусственных элементов системы кровообращения.

Разработанный нашей группой оригинальный вариант сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах (EM-BSEM) позволяет получать микрофотографии высокого разрешения, визуально сходные с таковыми при просвечивающей электронной микроскопии [14, 15].

Цель работы — выполнить сравнительную оценку строения неинтимы нативных тканей (кондуиты для коронарного шунтирования, биопротезы клапанов сердца) и искусственно созданных тканеинженерных (сосудистые протезы) и металлических конструкций (стенты).

Материал и методы

Объектами исследования выступили: 1) участки внутренней грудной артерии человека, используемой в качестве кондуитов для коронарного шунтирования (от 30 больных); 2) экспериментальные сосудистые протезы из биодеградируемых полимеров поли(3-гидроксипропирата-ко-3-гидроксивалерата) и поли(ε-капролактона), имплантированные в сонную артерию овцы и извлеченные по завершении срока наблюдения (1,5 года); 3) ранее имплантированные в митральную позицию и эксплантированные по причине кальцификации (от 4 овец) или инфекционного эндокардита ($n=5$) створки ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца («ЮниЛайн», ЗАО «НеоКор», Кемерово, Россия) от 8 больных; 4) металлические стенты с окружающими тканями, ранее имплантированные в выводной отдел правого желудочка детей, рожденных с низкой массой тела с целью обеспечения насыщения крови кислородом до последующей полной хирургической коррекции тетрады Фалло [16] (от 7 больных); 5) металлический стент, ранее имплантированный в сонную артерию человека по причине гемодинамически значимой хронической ишемии головного мозга и извлеченный вследствие рестеноза сонной артерии вместе с окружающими тканями при каротидной эндартерэктомии (1 больной).

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики

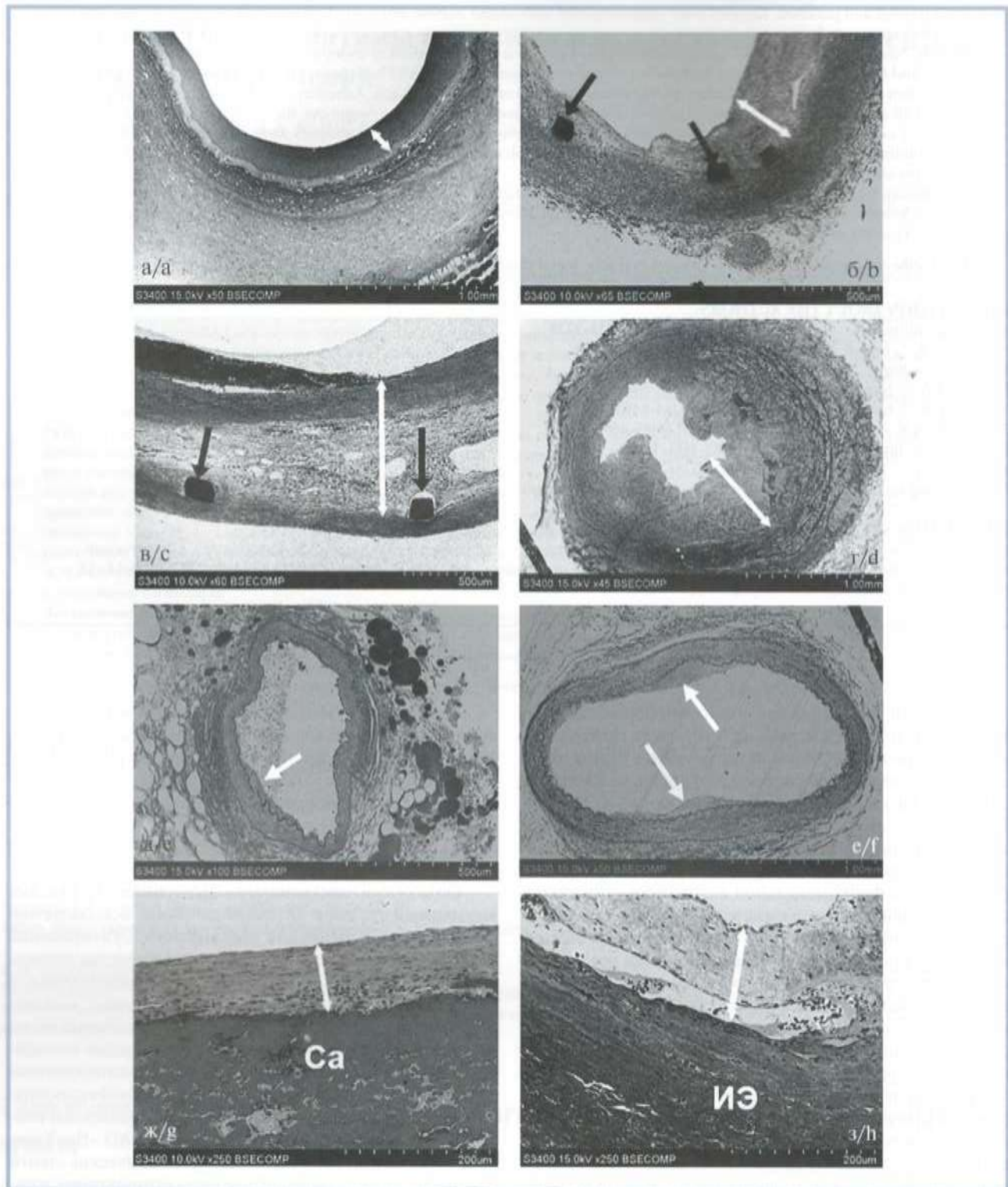


Рис. 1. Общий вид исследуемых элементов системы кровообращения.

а — биodeградируемый сосудистый протез, имплантированный в сонную артерию овцы; б — металлический стент, имплантированный в легочную артерию ребенка с тетрадой Фалло; в — металлический стент, имплантированный в сонную артерию человека по причине ее рестеноза; г—е — различные варианты эксплантированной при проведении коронарного шунтирования внутренней грудной артерии; ж — кальцинированный биопротез митрального клапана сердца «ЮниЛайн»; з — инфекционный эндокардит митрального клапана. Белые стрелки — неointима, черные стрелки — структуры стента.

Fig. 1. General view of the studied elements of the circulatory system.

а — biodegradable vascular prosthesis implanted in the carotid artery of a sheep; б — a metal stent implanted in the pulmonary artery of a child with Fallot's tetralogy; в — a metal stent implanted in the human carotid artery due to its restenosis; д—е — different variants of the internal thoracic artery explanted during coronary bypass surgery; г — calcified bioprosthesis of the mitral heart valve «UniLine»; з — infective endocarditis of the mitral valve. White arrows — neointima; black arrows — stent structures.

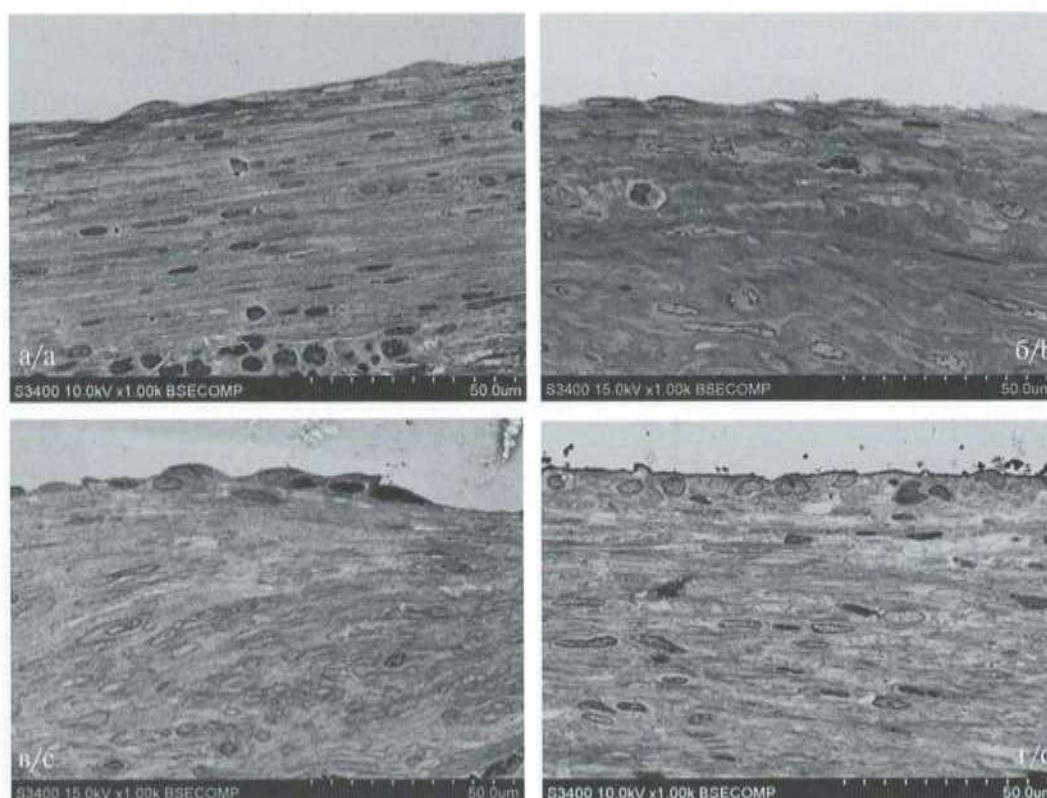


Рис. 2. Структурное сходство неинтимы в нативных и протезных элементах системы кровообращения.

а — кальцинированный биопротез митрального клапана сердца «ЮниЛайн»; б — биodeградируемый сосудистый протез, имплантированный в сонную артерию овцы; в — эксплантированная при проведении коронарного шунтирования внутренняя грудная артерия; г — металлический стент, имплантированный в легочную артерию ребенка с тетрадой Фалло.

Fig. 2. Structural similarity of neointima in native and prosthetic elements of the circulatory system.

а — calcified mitral valve bioprosthesis UniLine; б — biodegradable vascular prosthesis implanted in the carotid artery of a sheep; в — internal thoracic artery explanted during coronary bypass surgery; (d) a metal stent implanted in the pulmonary artery of a child with tetralogy of Fallot.

(Good Clinical Practice), принципами Хельсинкской декларации (2013) и с соблюдением этических принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». До включения в работу от всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

Образцы тканей сразу после их извлечения помещали в забуференный (pH 7,4) 10% водный раствор формалина («БиоВитрум», Россия). После фиксации в формалине в течение 1 сут (2 смены раствора формалина по 12 ч каждая) биоматериал постфиксировали 1% тетраоксидом осмия в 0,1М фосфатном буфере в течение 12 ч, затем окрашивали 2% тетраоксидом 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 («БиоВитрум», Россия) в течение 5 ч и ацетоном («Реахим», Россия) в течение 4 ч, пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой

Epon (Electron Microscopy Sciences, США) в соотношении 1:1 (6 ч), после чего переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (на 24 ч) и далее проводили ее полимеризацию в емкостях FixiForm (Electron Microscopy Sciences, США) при 60°C. Полученные эпоксидные блоки подвергали шлифовке и полировке до достижения глубины расположения интересующего участка биологической ткани на установке TegraPol-11 (Struers, США). Эта процедура обеспечивала полную структурную сохранность образца, включая участки с кальциевыми включениями и металлическими стентами. Контрастирование цитратом свинца проводили по Рейнольдсу в течение 7 мин путем нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. Далее проводили напыление на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10–15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста (EM ACE200, Leica). Визуализацию структуры образцов при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах проводили на электронном микроскопе Hitachi-S-3400N (Hitachi, Япония) в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 или 15 кВ. При исследованиях в структуре неинтимы идентифицировали элементы внеклеточного матрикса и определяли клеточный состав.

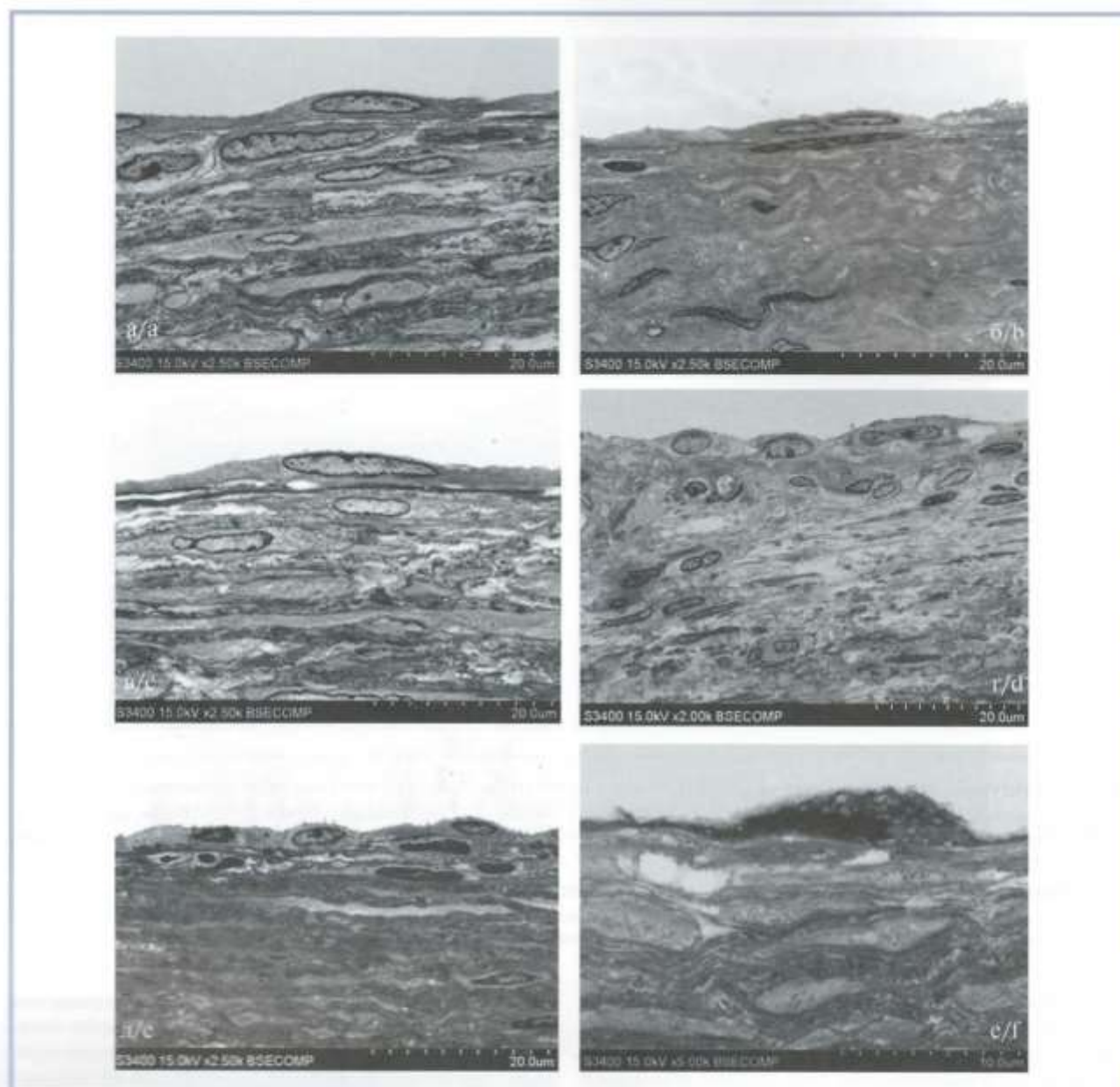


Рис. 3. Строение эндотелия и субэндотелиального слоя в структуре неоинтимы тканеинженерного сосудистого протеза малого диаметра.

а — утолщенный эндотелий на поверхности гладкомышечных клеток; б — эндотелий на поверхности фибробластоподобных клеток; в — эндотелий на поверхности мембраноподобного слоя, лежащего поверх гладкомышечных клеток; г, д — эндотелий, расположенный поверх других типов клеток; е — некротизированный эндотелиоцит на поверхности из фибриноподобных волокон.

Fig. 3. The structure of the endothelium and subendothelial layer in the structure of the neointima of a tissue-engineered vascular prosthesis of small diameter.

а — flattened endothelium on the surface of smooth muscle cells; б — endothelium on the surface of fibroblast-like cells; в — endothelium on the surface of a membrane-like layer lying above of smooth muscle cells; г, д — endothelium located over of other cell types; е — necrotized endothelial cell on the surface of fibrin-like fibers.

Результаты

Во всех исследованных образцах наблюдали появление слоев неоинтимы на контактирующих с кровью поверхностях. В сосудистых протезах (рис. 1, а) неоинтима образовывала сплошной равномерный слой с различной электронной плотностью по всей окружности. В стентированном выводном отделе правого желудочка ребенка с тетрадой Фалло (рис. 1, б) слой неоинтимы находился на остатках

слоя адвентиции, сохранившегося после установки стента. Неоинтима имела неравномерную толщину за счет разрастания адвентиции и выступов в районе установки стента. Вблизи адвентиции в составе неоинтимы находились отдельные капилляры. При рестенозе сонной артерии в участках с сохранившимся сосудистым просветом (рис. 1, в) неоинтима также образовывала сплошной слой по всему периметру сосуда. Неоинтима имела неравномерную

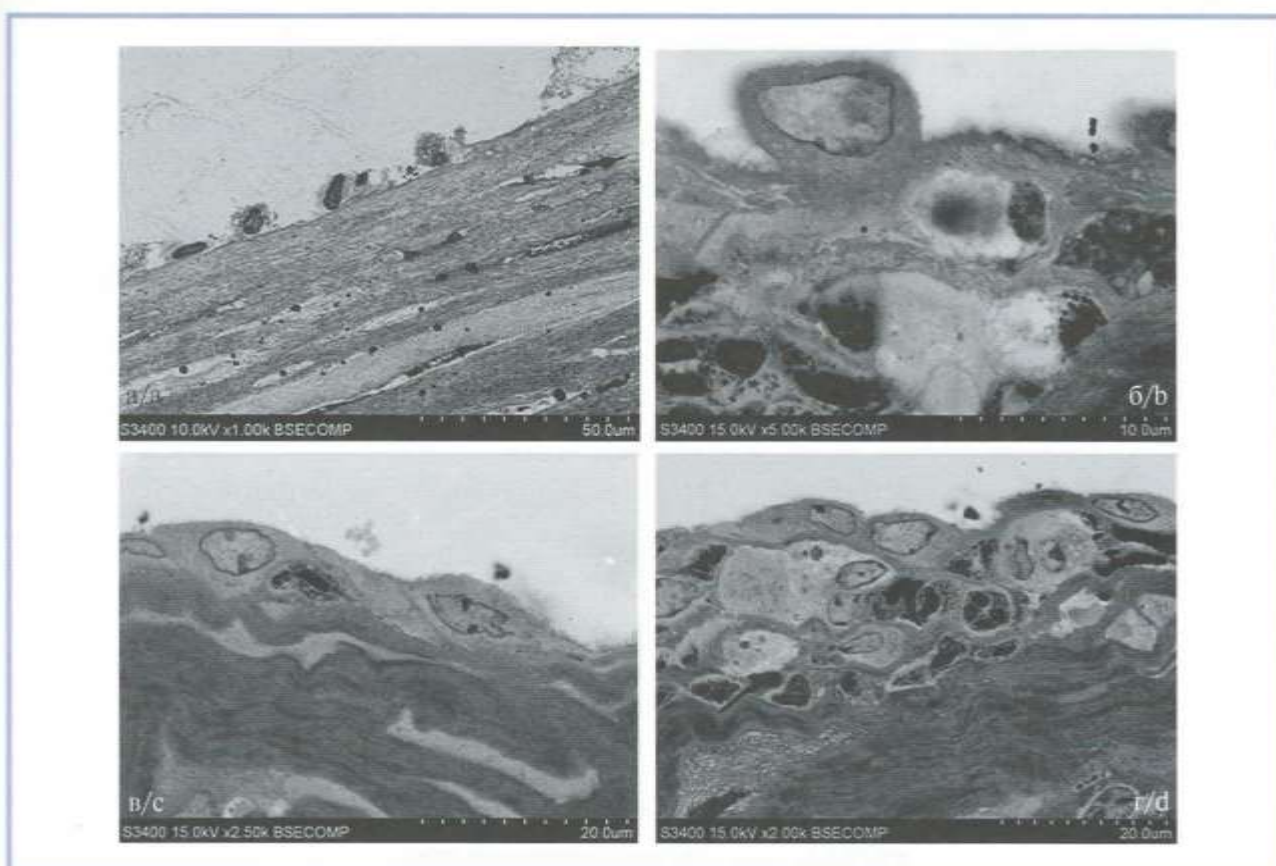


Рис. 4. Адгезия и миграция лейкоцитов в структуру неоинтимы.

а — адгезия лейкоцитов, стент в рестенозированной сонной артерии человека; б — адгезия лейкоцитов на поверхность эндотелия, кальцинированный биопротез митрального клапана сердца; в, г — миграция моноцитов и нейтрофилов, сосудистый графт малого диаметра в сонной артерии овцы.

Fig. 4. Adhesion and migration of leukocytes into the neointima.

а — leukocyte adhesion, stent in a restenotic human carotid artery; б — adhesion of leukocytes to the surface of the endothelium, calcified bioprosthesis of the mitral valve of the heart; в, г — migration of monocytes and neutrophils, a small-diameter vascular graft in the carotid artery of a sheep.

электронную плотность: вблизи оставшегося слоя адвентиции имелся слой светлой ткани, содержащей многочисленные сосуды; со стороны просвета сосуда неоинтимы представляла собой слой высокой электронной плотности (см. рис. 1, в). В различных вариантах внутренней грудной артерии неоинтимы была представлена по-разному. В сосудах с подозрением на наличие инфекции неоинтимы покрывала толстым слоем всю внутреннюю поверхность (рис. 1, г), однако в большинстве случаев в структуре сосуда наблюдали присутствие лишь отдельных участков, покрытых неоинтимой (рис. 1, д, е). В кальцинированном биопротезе митрального клапана отложения кальция, контактирующие с потоком крови, были покрыты тонким плотным слоем неоинтимы (рис. 1, ж). В нативном митральном клапане с инфекционным эндокардитом слой неоинтимы был рыхлым, имел низкую электронную плотность и мог содержать капилляроподобные структуры (рис. 1, з).

При прицельном рассмотрении при большем увеличении (рис. 2, а—г) все варианты неоинтимы независимо от элементов системы кровообращения (нативные или протезные) имели структурное сходство и содержали слой эндотелия, гладкомышечные клетки и соединительнотканые волокна. Эндотелиальный слой имел большое разнообразие как между различными элементами системы крово-

обращения, так и в пределах одной анатомической структуры (см. рис. 2). Эти отличия проявлялись в форме клеток, структуре их ядер и гистоархитектонике субэндотелиального слоя. Клетки могли иметь типичную для эндотелиальных клеток уплощенную (см. рис. 2, а—в) или округлую форму (см. рис. 2, г). При отсутствии воспаления в поверхностном слое расположение гладкомышечных клеток и волокон было параллельно эндотелию. Кроме гладкомышечных клеток в этом слое присутствовало большое количество клеток фибробластического ряда. Типирование клеток выполняли на основании морфологических критериев. Гладкомышечные клетки определяли по более светлым ядрам, обычно имеющим веретеновидную форму и тонкий слой эухроматина по периферии, светлой вытянутой цитоплазме, наличию электронно-плотного слоя на границе плазматической мембраны. Клетки фибробластического ряда дифференцировали по более темным ядрам с большим количеством эухроматина в центре и по периферии, меньшему поперечному сечению ядра у фиброцитов, дополнительным критерием служило наличие вблизи клеток коллагеновых волокон.

Структура субэндотелиального слоя была различной не только в разных полях зрения, но и элементах системы кровообращения. В ряде образцов эндотелий непосредственно прилегал к гладкомышечным клеткам (рис. 3, а),

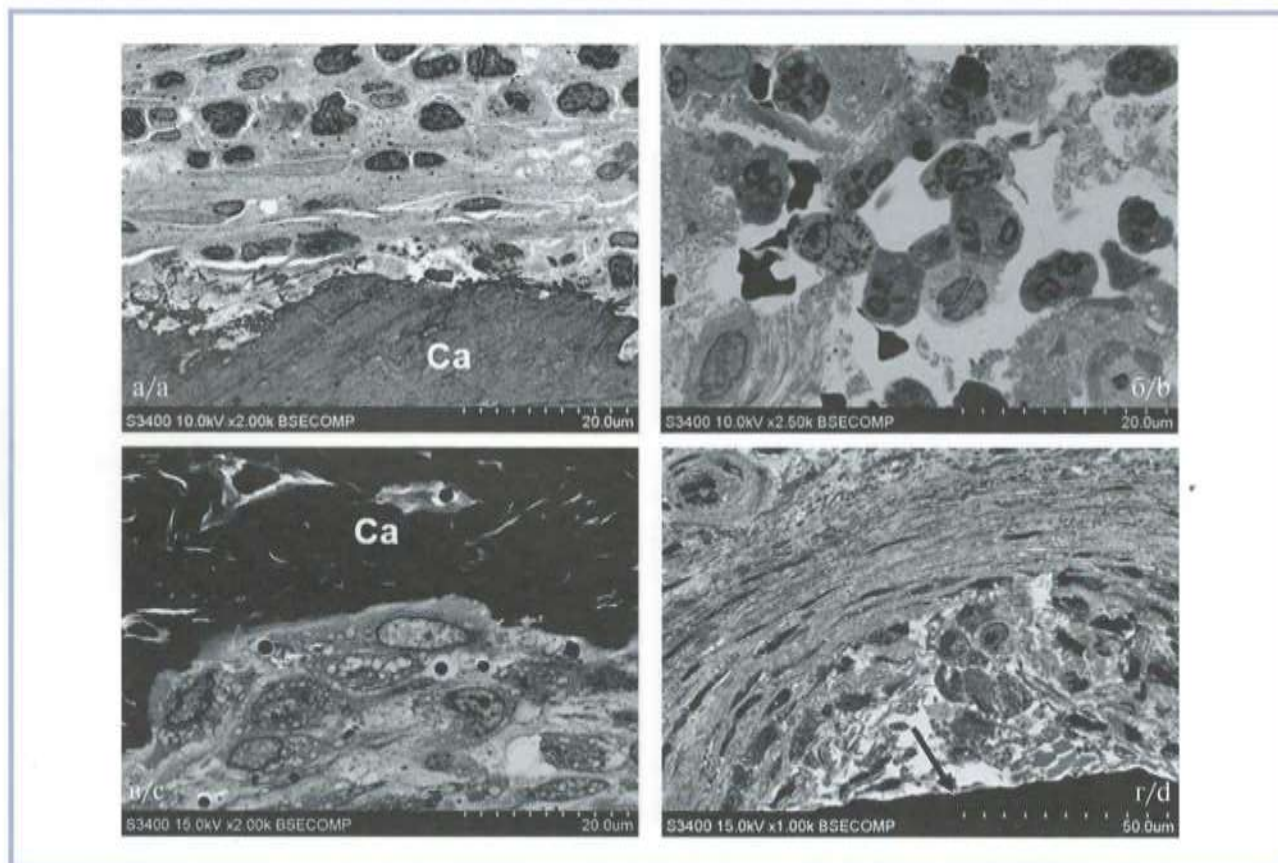


Рис. 5. Лейкоциты и пенистые клетки на границе с твердыми включениями в неointиме.

а, б — макрофаги и нейтрофилы вблизи границы неointимы с кальциевыми депозитами, биопротез митрального клапана сердца; в — пенистые клетки и макрофаги вблизи кальцификата в составе неointимы сосудистого протеза; г — макрофаги и пенистые клетки вблизи балки стента сонной артерии (стрелка — граница со стойкой стента).

Fig. 5. Leukocytes and foam cells around the solid inclusions in the neointima.

а, б — macrophages and neutrophils near the border of the neointima with calcium deposits, bioprosthesis of the mitral valve of the heart; в — foam cells and macrophages around the calcium deposit in the vascular graft neointima; д — macrophages and foam cells around of the carotid artery stent (arrow indicates the border with the stent strut).

часто встречались участки, в которых эндотелий примыкал к фибробластоподобным клеткам, имеющим сильно уплощенную форму и вытянутое ядро с электронно-плотным содержимым (рис. 3, б). Иногда между эндотелием и гладкомышечными клетками находилась электронно-плотная базальная мембрана (рис. 3, в). Кроме того, эндотелий мог располагаться поверх слоя, состоящего из различных видов клеток (рис. 3, г, д). В таком варианте под эндотелием отсутствовал слой уплощенных клеток или упорядоченных волокон. Редко встречались участки с некротизированными эндотелиоцитами, находящимися на поверхности фибриноподобных волокон (рис. 3, е).

Большая часть поверхности неointимы, контактирующей с кровью, была покрыта только эндотелиальными клетками. Однако встречались участки, на поверхности которых наблюдали адгезию лейкоцитов (рис. 4). Среди этих клеток преимущественно встречались моноциты и нейтрофилы (см. рис. 4, а, б). Поскольку данные клеточные популяции также присутствуют в неointиме (см. рис. 4, в, г), можно предположить функциональную активность адгезирующих клеток и их миграцию вглубь неointимы.

В составе неointимы вблизи твердых включений, таких как очаги кальцификации или балки металлического

стента, часто присутствовали макрофаги и нейтрофильные лейкоциты (рис. 5, а, б). Вблизи места контакта кальцификатов или балок стентов часто наблюдали скопления пенистых клеток (рис. 5, в, г).

При гиперплазии неointимы в ее составе встречаются капилляроподобные структуры и полностью структурированные капилляры.

При значительном расширении слоя меди на границе между медией и неointимой встречались капилляроподобные структуры и настоящие капилляры (рис. 6). Так, в стенке внутренней грудной артерии отмечались участки с капилляроподобными структурами, представляющими собой пространства вытянутой или неправильной формы, окруженные эндотелиоподобными клетками (см. рис. 6, а–в). В некоторых образцах внутри этих структур присутствовали эритроциты (см. рис. 6, б, в). У части таких структур отмечался контакт с просветом сосуда (см. рис. 6, б).

В неointиме образцов легочной артерии со стентами и неointиме сосудистых протезов вблизи границы с ними регистрировались хорошо структурированные капилляры (см. рис. 6, г, д). Наибольшее количество таких капилляров наблюдалось в неointиме, находящейся в составе стентированных артерий (см. рис. 6, г).

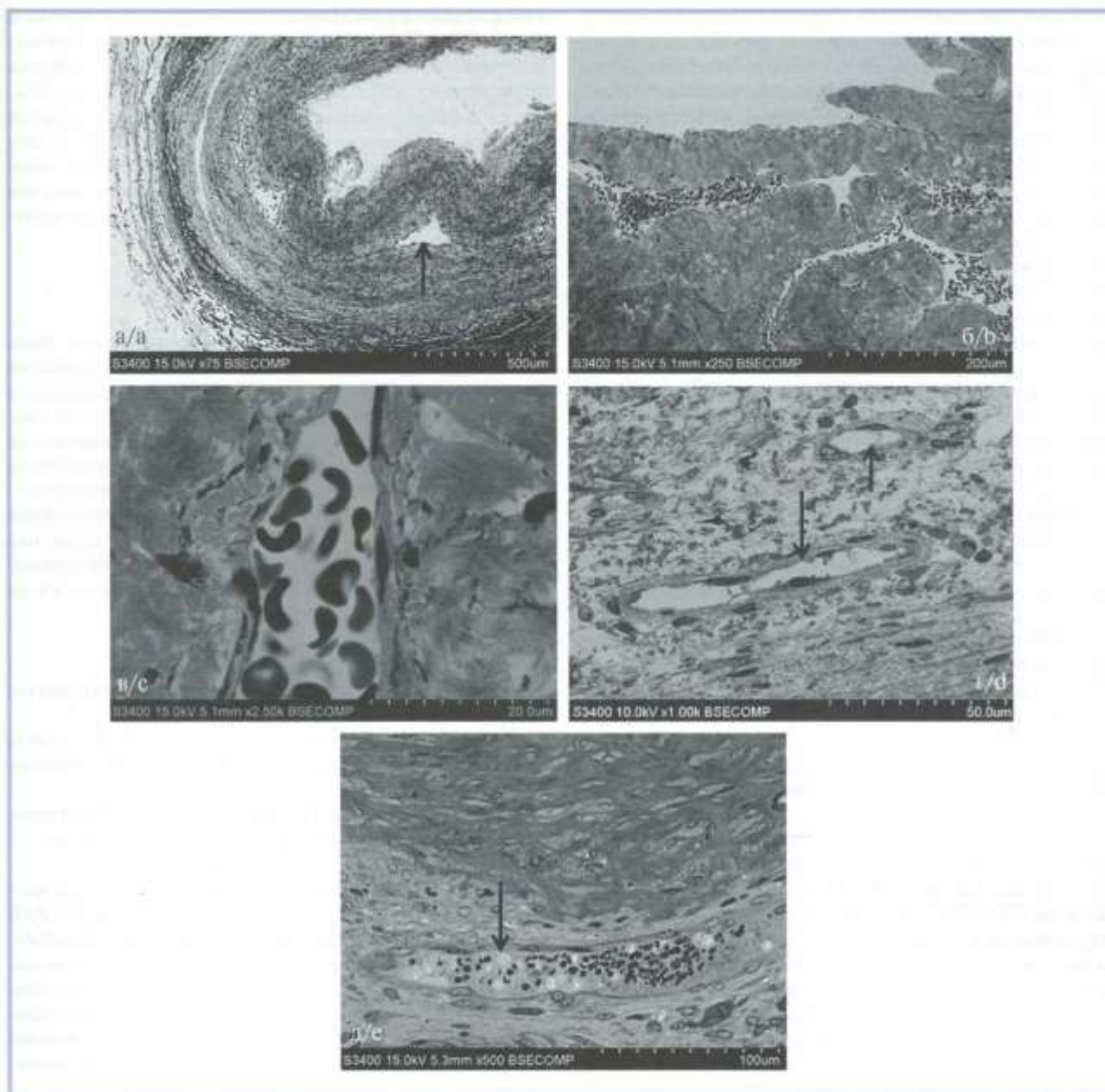


Рис. 6. Капилляроподобные структуры и капилляры в структуре гипертрофированной неинтимы.

а—в — капилляроподобные структуры в гипертрофированной неинтиме артерии с подозрением на инфицирование; г — капилляры в структуре неинтимы стентированного выводного отдела легочной артерии; д — капилляр на границе неинтимы и биодеградированного участка сосудистого протеза.

Fig. 6. Capillary-like structures and capillaries in the structure of hypertrophied neointima.

(a—c) capillary-like structures in the hypertrophied neointima of an artery with suspected infection; d — capillaries in the structure of the neointima of the stented outlet section of the pulmonary artery; e — capillary at the border of the neointima and the biodegraded area of the vascular prosthesis.

Обсуждение

Образование неинтимы — это характерная реакция различных элементов сердечно-сосудистой системы, находящихся в прямом контакте с кровью, на различные виды повреждения; кроме того, недостаточная гемосовместимость протезов элементов системы кровообращения также неминуемо приводит к формированию неинтимы на их поверхности. Вероятно, процесс формирования неинтимы у разных объектов может различаться на начальных

этапах. Если в случае стентированных артерий можно ожидать участие в этом процессе адвентиции, повреждение которой вызывает выброс воспалительных цитокинов и миграцию сосудистых гладкомышечных клеток [4], то для клапанных протезов и тканеинженерных сосудистых протезов такой сценарий представляется маловероятным. Тем не менее в сосудистых протезах вклад адвентиции в образование неинтимы возможен вблизи места контакта протезов с нативными сосудами. Наиболее вероятно, что в образовании неинтимы в структуре биопротезов клапанов

сердца и центральной части сосудистых протезов участвует фибрин, на поверхности которого формируется эндотелий и происходит миграция камбиальных клеток и лейкоцитов из кровотока [2]. В образовании неоинтимы артерий, вероятно, принимают участие фибриновые микротромбы и клетки интимы. На начальных этапах этого процесса фибрин играет роль внеклеточного матрикса [17]. В дальнейшем синтез внеклеточного матрикса происходит за счет участия гладкомышечных клеток синтетического фенотипа.

В составе неоинтимы наибольшим морфологическим разнообразием обладали эндотелиоциты и клетки субэндотелиального слоя. Клетки эндотелия различались по форме, электронной плотности цитоплазмы и ядра, субэндотелиальный слой — по клеточному составу и форме клеток. Субэндотелиальный слой обычно был образован гладкомышечными клетками и фиброцитами, однако в некоторых участках присутствовали клетки моноцитарного ряда. Вероятно, такой полиморфизм имеет адаптивный характер и обусловлен гидродинамическими различиями потока крови в конкретном участке кровотока.

Привлекает внимание то, что в отдельных участках неоинтимы наблюдается адгезия лейкоцитов на поверхности эндотелия. Трансмиграция этих клеток вглубь неоинтимы указывает на вероятность присутствия в этих участках воспалительных цитокинов.

Наличие пенистых клеток в неоинтимах вблизи твердых структур, вероятно, обусловлено низкой эластичностью этих включений. Поэтому пульсирующая механическая нагрузка в месте контакта с клетками неоинтимы приводит к механическому разрушению клеток с высвобождением факторов воспаления и привлечением моноцитов с последующей трансформацией в пенистые клетки.

В целом неоинтима во всех образцах имела структурное сходство и состояла из параллельных слоев гладкомышечных клеток и ВКМ, покрытых со стороны просвета сосуда эндотелием. При этом сформировавшаяся неоинтима не является статичным образованием и находится в постоянном процессе ремоделирования. Отмечено изменение клеточного состава, появление макрофагов, в том числе пенистых клеток, а также капилляров и кальциевых депозитов. Представляет интерес образование капиллярноподобных структур в составе расширенных фиброзных отложений на стенке внутренней грудной ар-

терии. Одним из объяснений такого явления может быть то, что отложение фибрина происходит слоями. Возможен вариант, при котором слой фибрина откладывается на неоинтиму, уже покрытую эндотелием. Если прилегание слоя фибрина неплотное и имеет полости на границе между уже эндотелизированным фибрином и свежим слоем, есть вероятность, что произойдет разрастание эндотелия из более глубокого слоя на вновь отложенные слои фибрина. Результатом этого процесса являются капиллярноподобные структуры.

Заключение

Полученные данные показали, что различные виды элементов системы кровообращения при разных вариантах сердечно-сосудистого ремоделирования характеризовались формированием неоинтимы, ультраструктура которой имела однотипный характер и была представлена эндотелием, гладкомышечными клетками, фибробластами и внеклеточным матриксом. Наблюдавшиеся различия ультраструктуры, вероятно, обусловлены особенностями распределения гидродинамических нагрузок в пульсирующем кровотоке внутри изученных элементов системы кровообращения, а также миграцией и участием иммунокомпетентных клеток в процессе ремоделирования.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Р.А. Мухамадияров, А.Г. Кутихин;

Сбор и обработка материала — В.А. Кошелев, А.В. Фролов, А.В. Миронов, А.Р. Шабаев, А.В. Евтушенко, А.А. Ляпин;

Написание текста — Р.А. Мухамадияров, А.Г. Кутихин;

Редактирование — А.Г. Кутихин, А.В. Евтушенко

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ №0546-2019-0002 «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».

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Плеханова О.С., Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Механизмы ремоделирования сосудов после повреждения артерий. *Кардиология*. 2015;55(7):63-77.
Plekhanova OS, Parfenova EV, Tkachuk VA. Mechanisms of vascular remodeling after arterial injury. *Kardiologiya*. 2015;55(7):63-77. (In Russ.).
<https://doi.org/10.18565/cardio.2015.7.63-77>
2. Glise L, Larsson P, Jern S, Borén J, Levin M, Ny T, Fogelstrand P, Bergh N. Disturbed laminar blood flow causes impaired fibrinolysis and endothelial fibrin deposition in vivo. *Thromb Haemost*. 2019;119(2):223-233.
<https://doi.org/10.1055/s-0038-1676638>
3. Lipinski B, Pretorius E. Iron-induced fibrin in cardiovascular disease. *Curr Neurovasc Res*. 2013;10(3):269-274.
<https://doi.org/10.2174/15672026113109990016>
4. O'Brien ER, Ma X, Simard T, Pourdjabbar A, Hibbert B. Pathogenesis of neointima formation following vascular injury. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2011;11(1):30-39.
<https://doi.org/10.2174/187152911795945169>
5. Williams H, Slater S, George SJ. Suppression of neointima formation by targeting β -catenin/TCF pathway. *Biosci Rep*. 2016;36(6):e00427.
<https://doi.org/10.1042/BSR20160229>
6. Braga SF, Neves JR, Ferreira J, Carrilho C, Simões JC, Mesquita A. Neointimal hyperplasia. *Rev Port Cir Cardiorac Vasc*. 2019;26(3):213-217.
7. McMonagle MP. The quest for effective pharmacological suppression of neointimal hyperplasia. *Curr Probl Surg*. 2020;57(8):100807.
<https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2020.100807>

8. Kim HO, Jung HW, Lee JH, Kim JS, Hong SJ, Ahn CM, Kim BK, Kim W, Kim SJ, Kim W, Ko YG, Choi D, Hong MK, Jang Y. Neointima characteristics as a prognostic marker for drug-coated balloon angioplasty in patients with in-stent restenosis: an optical coherence tomography study. *Coron Artery Dis.* 2020;31(8):694-702. <https://doi.org/10.1097/MCA.0000000000000946>
9. He Y, Jiao D, Chen P, Li N, Jin C. The relationship of lumen diameter and neointimal hyperplasia with inflation pressure. *Technol Health Care.* 2019;27(4):407-415. <https://doi.org/10.3233/THC-181184>
10. De Meyer GR, Bult H. Mechanisms of neointima formation—lessons from experimental models. *Vasc Med.* 1997;2(3):179-189. <https://doi.org/10.1177/1358863X9700200304>
11. Lijnen HR, Van Hoef B, Umans K, Collen D. Neointima formation and thrombosis after vascular injury in transgenic mice overexpressing plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). *J Thromb Haemost.* 2004;2(1):16-22. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2003.00533.x>
12. Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Frangogiannis NG. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48(3):504-511. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.07.015>
13. Ebert MLA, Schmidt VF, Pfaff L, von Thaden A, Kimm MA, Wildgruber M. Animal models of neointimal hyperplasia and restenosis: species-specific differences and implications for translational research. *JACC Basic Transl Sci.* 2021;6(11):900-917. <https://doi.org/10.1016/j.jacbs.2021.06.006>
14. Mukhamadiyarov RA, Bogdanov LA, Glushkova TV, Shishkova DK, Kostyunin AE, Koshelev VA, Shabaev AR, Frolov AV, Stasev AN, Lyapin AA, Kutikhin AG. Embedding and backscattered scanning electron microscopy: a detailed protocol for the whole-specimen, high-resolution analysis of cardiovascular tissues. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:739549. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.739549>
15. Mukhamadiyarov RA, Kutikhin AG. Backscattered scanning electron microscopy approach for assessment of microvessels under conditions of normal microanatomy and pathological neovascularization. *Bull Exp Biol Med.* 2020;169(4):525-530. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04927-1>
16. Nokhrin AV, Tarasov RS, Mukhamadiyarov RA, Shishkova DK, Kutikhin AG, Dzyuman AN, Khlusov IA, Barbarash LS. Two-stage approach for surgical treatment of tetralogy of Fallot in underweight children: Clinical and morphological outcomes. *J Card Surg.* 2019;34(5):293-299. <https://doi.org/10.1111/jocs.14031>
17. van Hinsbergh VW, Koolwijk P, Hanemaaijer R. Role of fibrin and plasminogen activators in repair-associated angiogenesis: in vitro studies with human endothelial cells. *EXS.* 1997;79:391-411. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-9006-9_16

Поступила 09.01.2022

Received 09.01.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Хордома как нейрохирургическая патология

© В.С. СИДОРИН¹, А.В. ЕФИМОВ², К.А. СРЕЛКИНА², Т.В. СОКОЛОВА¹, А.Ю. ОРЛОВ¹,
Ю.М. ЗАБРОДСКАЯ¹

¹Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А.А. Поленова — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить значение хордомы как нейрохирургической патологии с учетом последней редакции классификации ВОЗ опухолей мягких тканей и костей (2020 г.).

Материал и методы. Проведен анализ 28 хордом у больных, прооперированных в РНХИ им. проф. А.А. Поленова. Все хордомы верифицированы гистологически, в том числе с использованием иммуногистохимических маркеров нотохордальной дифференцировки (S100, EMA, кератин, белка брахиурина).

Результаты. Пациенты с хордомами составили 0,25% от общего числа нейрохирургических пациентов. Подавляющее большинство (27) хордом имели кранио-вертебральную локализацию. Сакральная локализация (S₁-S₅) опухоли выявлена у 1 пациента. В 4 (15%) случаях операции проведены по поводу рецидива хордомы. Опухоли имели тенденцию к прорастанию в структуры черепа, обрастали сосуды и нервы, сдавливали прилежащие мозговые структуры. Это проявлялось болевым синдромом, неврологической симптоматикой, нарушением ликвородинамики. По гистопатологическим критериям 27 (96%) случаев опухоли отнесены к конвенциональному (обычному) типу хордомы, среди них 7 соответствовали хондронанному подтипу хордомы. В 1 (4%) случае выявлена дедифференцированная хордома.

Заключение. Хордома в силу своей осевой локализации закономерно вовлекает прилежащие структуры нервной системы, имеет клинически значимые нейропатологические проявления и часто предъявляет прямые показания для специального нейрохирургического пособия. Это требует ее рассмотрения не только как костной, но и нейрохирургической онкологической патологии, наряду с другими неменингеальными (мезенхимальными) опухолями ЦНС.

Ключевые слова: хордома, нотохордальная опухоль, опухоль кости, опухоль ЦНС, онкопатология осевого скелета, нейрохирургическая онкология.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сидорин В.С. — <https://orcid.org/0000-0001-5116-1291>

Ефимов А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-4644-6601>

Стрелкина К.А. — <https://orcid.org/0000-0002-0613-1699>

Соколова Т.В. — <https://orcid.org/0000-0003-3573-0874>

Орлов А.Ю. — <https://orcid.org/0000-0001-6597-3733>

Забродская Ю.М. — <https://orcid.org/0000-0001-6206-2133>

Автор, ответственный за переписку: Сидорин В.С. — e-mail: sidovaser@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Сидорин В.С., Ефимов А.В., Стрелкина К.А., Соколова Т.В., Орлов А.Ю., Забродская Ю.М. Хордома как нейрохирургическая патология. *Архив патологии*. 2022;84(3):24–31. <https://doi.org/10.17116/patol20228403124>

Chordoma as a neurosurgical pathology

© V.S. SIDORIN¹, A.V. EFIMOV², K.A. STRELKINA², T.V. SOKOLOVA¹, A.Yu. ORLOV¹, YU.M. ZABRODSKAYA¹

¹Polenov Neurosurgical Institute — the branch of Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia;

²I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia

ABSTRACT

Objective. Assess the significance of chordoma as a neurosurgical pathology, taking into account the latest edition of the WHO classification of soft tissues and bone tumors (2020).

Material and methods. An analysis of 28 chordomas was carried out. All chordomas were histologically verified, including using immunohistochemical markers of notochordal differentiation (S100, EMA, keratin, brachyuria protein).

Results. Patients with chordomas accounted for 0.25% of the total number of neurosurgical patients. The vast majority (27) of chordomas had a craniocervical localization. Sacral localization (S₁-S₅) of the tumor was detected in 1 patient. In 4 (15%) cases, operations were performed for the recurrence of chordoma. The tumors tended to grow into the structures of the skull, overgrown the vessels and nerves, and compress the adjacent brain structures. This was manifested by pain syndrome, neurological symptoms, impaired liquorodynamics. According to histopathological criteria, 27 (96%) cases of tumors were classified as conventional (usual) chordoma type, among them 7 corresponded to the chondroid subtype of the chordoma. In 1 case (4%), a dedifferentiated chordoma was detected.

Conclusion. Chordoma, due to its axial localization, naturally involves adjacent structures of the nervous system, has clinically significant neuropathological manifestations, and often provides direct indications for a special neurosurgical approach. This

requires its consideration not only as a bone, but also as a neurosurgical oncological pathology, along with other non-meningothelial (mesenchymal) tumors of the CNS.

Keywords: chordoma, notochordal tumor, bone tumor, CNS tumor, oncopathology of the axial skeleton, neurosurgical oncology.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Sidorin V.S. — <https://orcid.org/0000-0001-5116-1291>

Efimov A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-4644-6601>

Strelkina K.A. — <https://orcid.org/0000-0002-0613-1699>

Sokolova T.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3573-0874>

Orlov A.Yu. — <https://orcid.org/0000-0001-6597-3733>

Zabrodskaia Yu.M. — <https://orcid.org/0000-0001-6206-2133>

Corresponding author: Sidorin V.S. — e-mail: sidovaser@yandex.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Sidorin VS, Efimov AV, Strelkina KA, Sokolova TV, Orlov AY, Zabrodskaia YuM. Chordoma as a neurosurgical pathology. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):24–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403124>

Введение

Хордома — эксклюзивная злокачественная опухоль мезодермального гистогенеза, которая связана с внутрикостными остатками нотохорды (эмбриональной спинальной струны) в области осевого скелета и традиционно рассматривается в отдельной группе нотохордальных опухолей [1, 2].

Нотохордальные остатки относятся к редкостям, типично располагаются внутрикостно и обнаруживаются преимущественно в области крестца и кранио-цервикального перехода как случайные рентгенологические находки. По данным Ю.Н. Соловьева [3] такие остатки удавалось найти на поверхности ската в 0,5–1,0% вскрытий, а в одной выборке у японцев даже в 20% [4]. Часто они вовлекают кортикальную пластинку кости, что, как известно, составляет патогенетическую основу так называемого сфено-окципитального физалиформного экзондроза [1, 5] и обнаруживается при аутопсии с частотой до 2,0% [6]. В этих остатках, построенных солидными пластинами эпителиоидного вида эозинофильных и вакуолизированных клеток, воспроизводящих в том числе иммуногистохимические нотохордальные особенности, прослеживается опухолевая природа [1]. В международной классификации болезней такие образования обозначаются как «доброкачественная нотохордалноклеточная опухоль»: МКБ-О 9370/0 и МКБ-11 2E89.Z&XH7MT7 [7]. Частота таких нотохордальных опухолей не установлена; предполагается, что они могут подвергаться малигнизации и сочетаются с хордомой [8].

Заболеваемость хордомой составляет 0,08 на 100 тыс. человек [1] и, хотя встречаются пациенты всех возрастов, большинство приходится на взрослых 30–60 лет, с явным (1,8:1) преобладанием мужчин [2, 3, 9]. Как указывают в приведенных выше источниках, на хордому приходится не так много: от 1 до 4–5% из числа злокачественных костных опухолей. Однако среди злокачественных опухолей в области осевого скелета хордомы составляют едва ли не половину поражений, и здесь они выходят по частоте на первое место, отесняя в том числе костные и хрящевые саркомы [10]. По обобщенным данным А.Н. Конова и соавт. [11] характерными местами возникновения хордом являются область крестца (30–60%), основание черепа (25–35%) и реже другие отделы позвоночного столба

(15–29%). В соответствии своему местоположению хордомы часто затрагивают такие критические соседние области, как мозговые оболочки, ствол головного мозга и спинной мозг, краниальные, спинальные сосуды и спинномозговые корешки [11, 12]. Это сближает хордому по клиническому значению с так называемыми неменинготелиальными (мезенхимальными) опухолями ЦНС и служит основанием для ее специального рассмотрения не только как костной, но и нейрохирургической онкологической патологии.

Классификация хордом в последней редакции международной классификации опухолей мягких тканей и костей (5-го пересмотра 2020 г.) подверглась существенным изменениям [13]. Так, хондроида (хрящеподобная) хордома рассматривается теперь не отдельно, а лишь в контексте конвенциональной (обычной) хордомы как ее гистологический подтип [2]. Сохраняется прежний подход к оценке дедифференцированной хордомы как наиболее малигнизированного, хотя и крайне редкого типа опухоли [14]. Леготимизируется новое понятие плохо дифференцированной хордомы (poorly differentiated chordoma), выделенной как еще более редкий тип опухоли по принципиально иному, молекулярно-генетическому признаку, делеции *SMARCB1* [15]. В диагностике всех видов хордом акцент делается на выявлении иммуногистохимических маркеров нотохордальной дифференцировки, таких как эпителиальный мембранный антиген (EMA), кератины, S100 и так называемый белок брахиурии (brachyury), кодируемый геном *TBX1* и отвечающий у млекопитающих за признак короткохвостости [2].

В соответствии с последними рекомендациями ВОЗ [2] конвенциональная хордома кодируется в МКБ-О индексом 9370/3 (как хордома NOS — not otherwise specified, без особой спецификации), а в МКБ-11 2B5K & XH9GH0 (хордома NOS) или 2B5K & XH17D8 (хондроида хордома). Классические хордомы представлены дольками, которые отделяются фиброзными прослойками с проходящими в них сосудами. Клетки по периферии опухоли преимущественно мелкие, в центре более крупные, устроены в пластах, гнездах, тяжах или по отдельности и погружены в слизеподобную строу. Типичными считаются более крупные клетки, отличающиеся характерным физалиформным видом, с обильной слабо эозинофильной вакуолизированной цитоплазмой.

Ядра с мелкодисперсным хроматином, проявляют умеренный полиморфизм. Митозы встречаются редко. Хондронидные (хрящеподобные) хордомы отличаются преобладанием областей, в которых клетки разрозненно, мелкими гнездами и тяжами погружены в обильный миксоидный матрикс, что придает сходство с гиалиновым или ослизненным хрящом. В сомнительных случаях помогает иммуногистохимическое исследование с выявлением экспрессии ядерного белка брахиурина и других маркеров нотохордальной дифференцировки.

Дедифференцированная хордома имеет в МКБ-О собственный индекс 9372/3 и в МКБ-11 2B5Z & XH7303 [14]. Такие опухоли встречаются редко и могут составлять не более 5% всех хордом [16]. Это наиболее малигнизированные хордомы, в которых наряду с сохраняющимися участками хордонидной дифференцировки обнаруживаются области, приобретающие саркоматозные черты, с замещением хордонидной дифференцировки остеосаркоматозной и рабдомиосаркоматозной (с экспрессией десмина и миогенина). В результате опухоль приобретает характерный бифазный вид [14].

Плохо дифференцированная хордома кодируется согласно последним рекомендациям ВОЗ [15] как хордома NOS, и в МКБ-О (9370/3), и в МКБ-11 (2B5Z & XH9GH0). Это наименее изученный тип анапластической хордомы, патогенетически связанный с делецией гена и потерей экспрессии в ядрах клеток SWI/SNF-родственного матрикс-ассоциированного актин-зависимого регулятора хроматина SMARCB1, известного также как интегративный интерактор INI1 [17, 18]. В мировой литературе находят всего лишь около 60 случаев, описанных преимущественно у детей и молодых взрослых [15, 19]. Опухоль имеет типичную для хордом локализацию и состоит из плотно сбитых в пласты и гнезда эпителиоидных клеток, часто с очаговой рабдоидной морфологией и некрозом. Классические черты хордомы, включая физалиформность и миксоматоз, проявляются слабо или отсутствуют. Диагноз требует комбинированной оценки экспрессии ядерных белков брахиурина (положительной) и INI1/SMARCB1 (негативной), причем отсутствие экспрессии INI1/SMARCB1 надежно поддерживается также прямым выявлением делеции соответствующего гена с помощью FISH-анализа [18, 19].

Цель исследования — оценить значение хордомы как нейрохирургической патологии с учетом последнего пересмотра Международной классификации опухолей мягких тканей и костей.

Материал и методы

Проанализировано 28 наблюдений нотохордальных опухолей, по поводу которых проводилось хирургическое лечение в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова в 2011–2021 гг. Все хордомы были верифицированы гистологически при исследовании операционного материала с учетом последней редакции Международной классификации опухолей мягких тканей и костей (5-й пересмотр, 2020 г.), в том числе с использованием рекомендованных ВОЗ иммуногистохимических маркеров нотохордальной дифференцировки: эпителиального мембранного антигена (EMA), кератина, белка S100, белка брахиурина, а также маркера пролиферативной активности Ki67. В одном случае с летальным исходом пациентки с рецидивом опухоли было произведено аутопсийное исследование.

Результаты

За 2011–2021 гг. в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова было зарегистрировано всего 28 (0,25% от общего числа нейрохирургических пациентов) случаев хордомы. Больные были в возрасте от 10 до 83 лет, по большей части (41%) в диапазоне 51–60 лет и без заметного преобладания мужчин (15:13).

Новообразования имели большие размеры (4–6 см и более), только в 1 случае опухоль оказалась относительно малых (2 см) размеров.

Подавляющее большинство составили 27 (96%) хордомы кранио-вертебральной локализации и лишь в 1 (4%) случае опухоль имела крестцовую локализацию, в области S₂–S₅ позвонков. Среди краниовертебральных опухолей большая часть приходилась на скат — 10 (36%) и краниофациальную область — 8 (28%), реже поражались турецкое седло — 4 (15%) и шейные позвонки C₁–C₂ — 2 (7%), а в 3 (11%) случаях отмечено широкое распространение опухоли по основанию черепа (рис. 1). В зависимости от локализации отдельные опухоли имели тенденцию к прорастанию в среднюю и заднюю черепные ямки, в большое отверстие затылочной кости и цервикально, в позвоночный канал, а в других случаях также в полость носа, носоглотку и основную пазуху. Обычно опухоли обрастали сосуды и нервы, компримировали прилежащие мозговые структуры. В клинической картине это проявлялось болевым синдромом, неврологической симптоматикой и симптомами нарушения ликвородинамики, что служило обоснованием для нейрохирургического вмешательства. Как правило, резекции опухолей определялись как тотальные. В 4 (15%) случаях операции проводились по поводу рецидивов, причем у одного пациента с 12-летним анамнезом заболевания это был третий рецидив.

По гистопатологическим критериям 27 (96%) опухолей, согласно последнему пересмотру классификации, отнесены к конвенциональной хордоме. Большая часть из них — 20 (74%), полностью соответствовали обычной

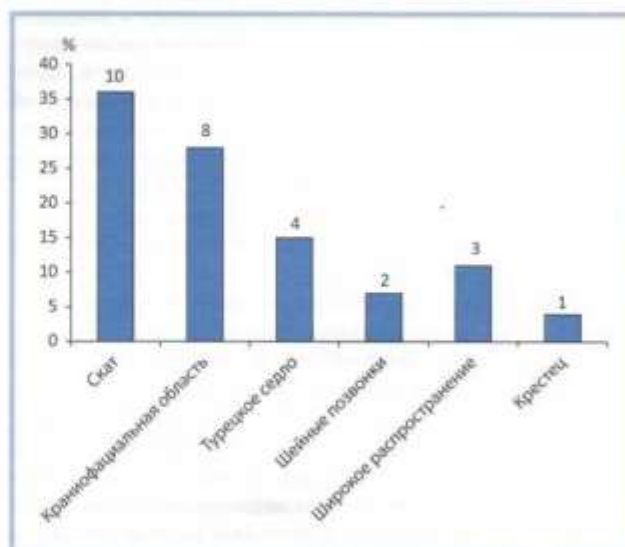


Рис. 1. Распределение хордом по локализации. Цифры в столбиках — число наблюдений.

Fig. 1. Distribution of chordomas by localization. The numbers in the columns are the number of observations.

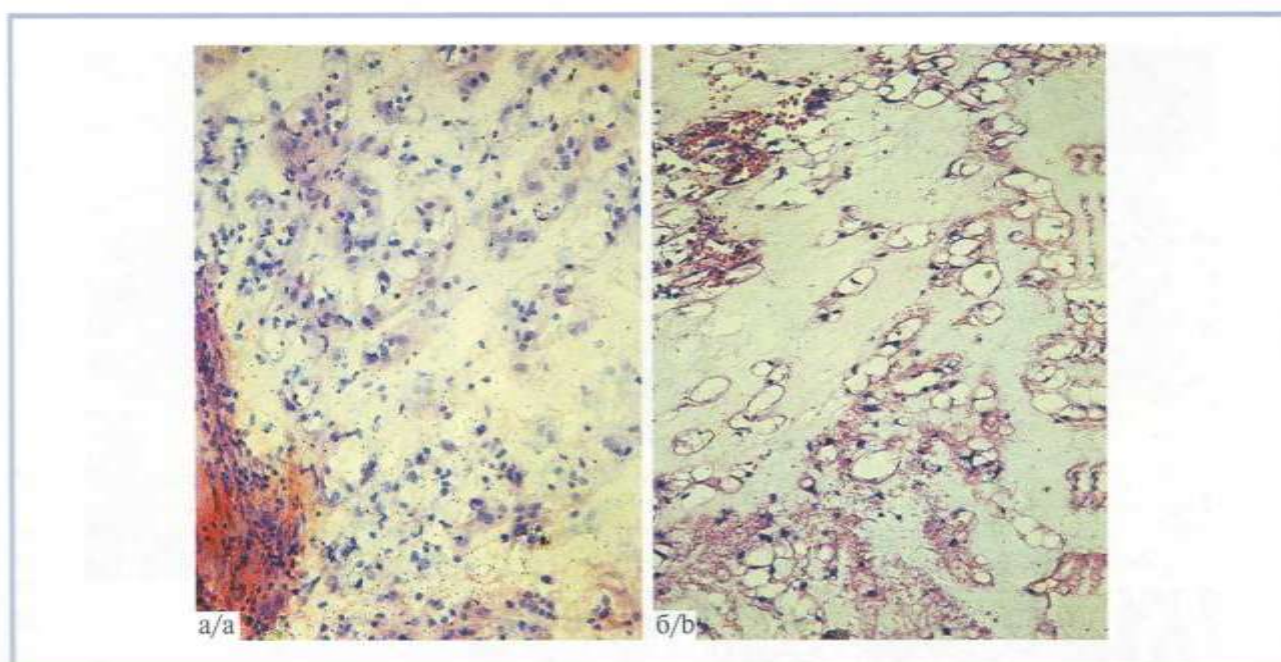


Рис. 2. Хордома ската.

а — рыхлый пласт эпителиоидных и более крупных физалифорных клеток в окружении миксоидного матрикса; б — участок опухоли с преобладанием миксоидных проявлений. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

Fig. 2. The chordoma of the clivus.

а — loose layer of epithelioid and larger physaliphorm cells surrounded by myxoid matrix; б — tumor site with a predominance of myxoid changes. H&E, $\times 200$.

хордоме, а около четверти, 7 (26%) — были оценены как хордомы хондроидного подтипа, хотя и в этих случаях можно было найти участки вполне узнаваемого классического вида. В 8 (30%) опухолях наблюдали кровоизлияния, в 4 (15%) — крупные очаги некроза и в 4 (15%) — отложения кальция. Иммуногистохимический индекс пролиферативной активности по Ki67 варьировал широко, составляя порядка 4—10%. Лишь в 1 (4%) случае найдена хордома бифазного строения, отличающаяся высокой пролиферативной активностью и соответствующая дедифференцированной хордоме. Образцов, в которых можно было бы предполагать плохо дифференцированную хордому (педиатрического типа) или доброкачественную нотохордальноклеточную опухоль среди исследованных опухолей не было. Первое объясняется безусловной редкостью этого малоизученного синдрома, обсуждаемого в мировой литературе по единичным наблюдениям. Второе — характерным для данной доброкачественной опухоли кости статусом случайной находки, без должного показания для нейрохирургического пособия.

Приводим примеры собственных наблюдений.

Наблюдение 1. Хордома классического вида. У пациентки 58 лет через 12 лет после тотального удаления большой (4,3 $\times$ 5,4 см) хордомы сфенопетрокливальной локализации появились головные боли, онемение носогубной складки. При амбулаторном обследовании на МРТ выявлены опухоль основания черепа, тривентрикулярная гидроцефалия. В РНХИ им. проф. А.Л. Поленова произведена вентрикулоперитонеостомия и после стабилизации состояния выполнена операция эндоскопической трансназальной резекции опухоли в области ската. При гистологическом исследовании верифицирован диагноз хордо-

мы, которая повторяла особенности предыдущей опухоли (рис. 2) и соответствовала в целом хордоме классического вида (рис. 3, а). Хотя муцинозные изменения в строме проявлялись по-разному, и в отдельных местах придавали опухоли хондроидные черты (рис. 3, б), это не противоречит диагнозу конвенциональной хордомы. Диагноз хордомы (МКБ-О: 9370/3) однозначно поддерживался как характерными цитологическими особенностями эпителиоидных и физалифорных клеток опухоли (рис. 3, в), так и иммуногистохимической реакцией с экспрессией S100, цитокератинов и ЕМА (рис. 3, г, д), а также наличием ядерной экспрессии белка брахиурии (рис. 3, е). В послеоперационном периоде состояние больной расценивалось как компенсированное. Предполагалось последующее проведение лучевой терапии. Однако к исходу пятой недели после операции состояние больной внезапно ухудшилось, появился озноб, за которым последовали обильное носовое кровотечение и остановка сердца. Попытка реанимации осталась безуспешной.

При проведении аутопсии выявлено, что хордома в основании черепа широко разрушает кость, проникая в пазуху основной кости и решетчатый лабиринт, прорастая экзофитно в полость черепа (рис. 4, а). Опухоль обрастает попутно подлежащие сосуды и нервы (рис. 4, б), тотально вовлекая мозговые оболочки, и проникает далее в периваскулярное пространство мозга (рис. 4, в). Внутренняя область опухоли, прилежащая к месту резекции, густо пропитана кровью и без четкой границы переходит к красному свертку, продолжающемуся в верхнюю часть трансназального раневого канала. Окружающие опухоль сосуды ангиоматозного вида, извитые и отчасти обтурированы красными тромбами. В пазухах носа, верхних

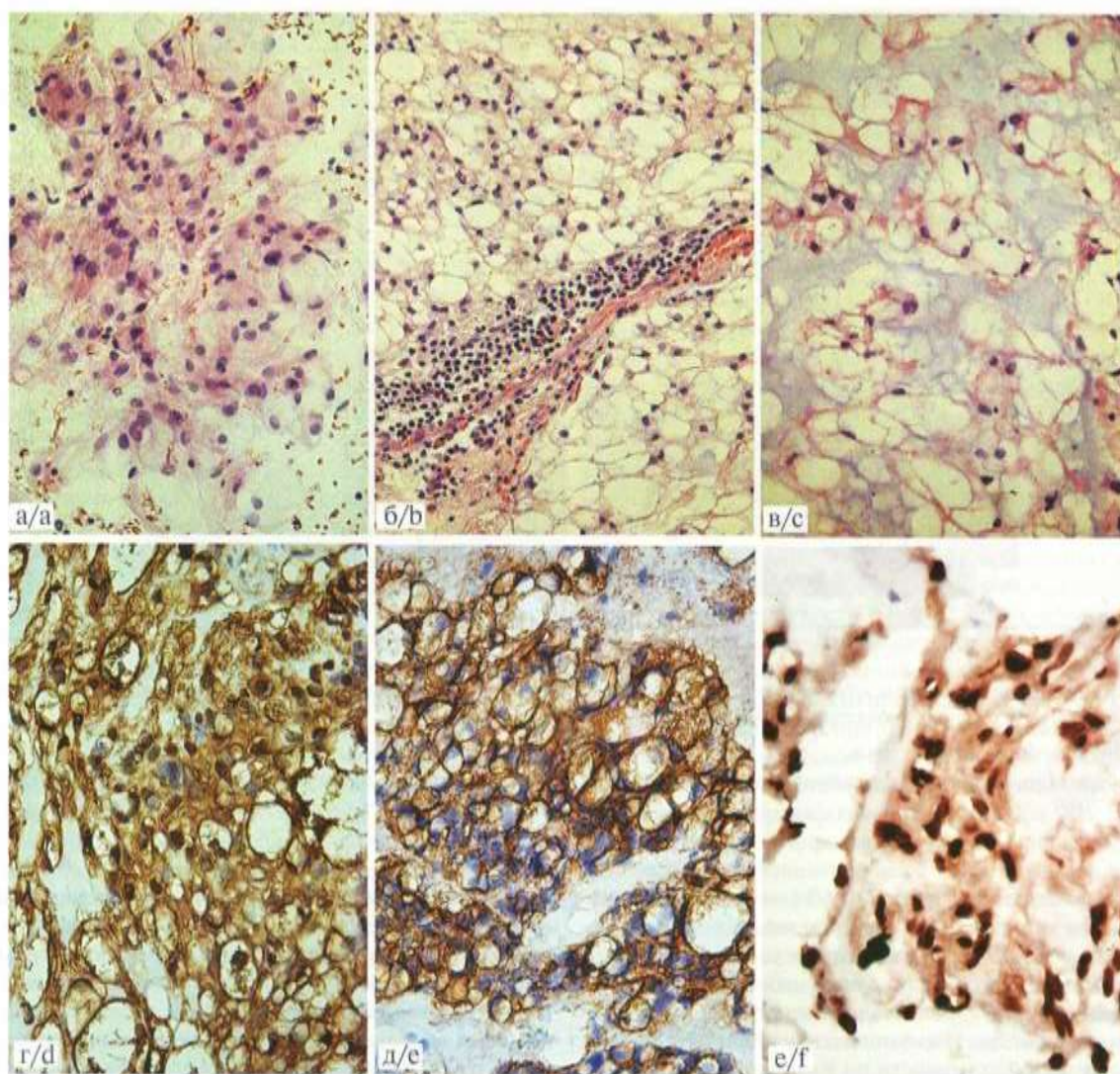


Рис. 3. Рецидив хордомы ската. Операционный материал.

а — типичный пласт эпителиоидных и более крупных физалиформных клеток в цитологическом препарате (мазке-отпечатке) интраоперационной биопсии, $\times 400$; б — типичная дольчатая структура опухоли с умеренными муцинозными проявлениями, $\times 200$; в — участок опухоли вида хондронной хордомы с мелкими гнездами клеток, утопающими в обильном миксоидном матриксе, $\times 200$; г — ядерно-цитоплазматическая экспрессия белка S100, $\times 400$; д — цитоплазматическая экспрессия ЕМА, $\times 400$; е — маркерная ядерная экспрессия белка брахиурина, $\times 400$. а—в — окраска гематоксилином и эозином, г—е — иммуногистохимическая реакция.

Fig. 3. Recurrence of the chordoma of the clivus. Operation material.

а — a typical sheet of epithelioid and larger physaliform cells in a cytological preparation (smear imprint) of intraoperative biopsy, $\times 400$; б — typical lobular histology of a tumor with moderate mucinous manifestations, $\times 200$; в — a tumor area of the chondroid chordoma type with small nests of cells in an abundant myxoid matrix, $\times 200$; д — nuclear-cytoplasmic expression of S100 protein, $\times 400$; е — cytoplasmic expression of EMA, $\times 400$; ф — marker nuclear expression of brachyury protein, $\times 400$. а—с — H&E, д—ф — immunohistochemical staining.

дыхательных путях и легких найдено около 600 мл геморагического аспирата и еще около 500 мл заглотанной крови — в пищеводе и желудке. Отмечены отек и дислокация головного мозга с вклиниванием мозжечка в дуральную воронку. Выявлены также отек и распространенные ателектазы легких, паренхиматозная дистрофия внутренних органов. Непосредственной причиной смерти послужило профузное кровотечение из ангиоматозно измененных сосудов в остатке опухоли. Особенностью случая является поздний рецидив хордомы, развившейся через 12 лет по-

сле тотального удаления первой опухоли на том же месте в основании черепа.

Наблюдение 2. Дедифференцированная хордома. У больного 57 лет при амбулаторном обследовании по поводу снижения зрения обнаружили правосторонний амвроз и атрофия зрительных нервов, при обследовании на магнитно-резонансных томограммах — опухоль в хиазмально-селлярной области (4×5 см). В РНХИ им. проф. А. Л. Поленова выполнена операция ее тотального удаления. При морфологическом исследовании опухоль имела



Рис. 4. Рецидив хордомы ската. Аутопсийное исследование.

а — интратуморальное постоперационное кровоизлияние в остатке опухоли (вид спереди, после рассечения зрительных нервов и ножки гипофиза); б — фрагмент опухоли, вовлекающей мозговые оболочки и обрастающей базальную артерию в области моста (препарат после формалиновой фиксации; деление шкалы 1 мм); в — опухоль тотально прорастает мягкую мозговую оболочку и распространяется в периваскулярное пространство мозга. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$.

Fig. 4. Recurrence of the chordoma of the clivus. Autopsy material.

а — postoperative intratumoral hemorrhage in the tumor remnant (front view, after dissection of the optic nerves and the pituitary pedicle); б — a fragment of a tumor involving the meninges and overgrowing the basal artery in the pontine region (preparation after formalin fixation, scale division of 1 mm); в — the tumor totally sprouts the pia mater and spreads into the perivascular space of the brain. H&E stain, $\times 100$.

вид дедифференцированной хордомы бифазного строения (рис. 5, а). Наряду с участками опухоли типично хордоидного строения с миксоидным матриксом (рис. 5, б), обнаруживались участки саркоматозного вида (рис. 5, в), где опухоль становилась плеоморфной, с наличием митозов и проявлениями ядерного и клеточного атипизма. Эти особенности проступали на первом плане в цитологических препаратах-отпечатках (рис. 5, г) и ставили под сомнение диагноз хордомы при проведении срочной интраоперационной биопсии. При иммуногистохимическом исследовании диагноз хордомы поддерживался позитивным окрашиванием кератинов и других маркеров (EMA, S100), отчетливо проявлявшимся в хордоидной фазе опухоли (рис. 4, д). Также подтверждалась высокая пролиферативная активность опухоли с явным преобладанием в ее саркоматозной фазе (рис. 5, е), где индекс ядерной экспрессии Ki67 очагами достигал 10–15%. В совокупности это послужило обоснованием диагноза дедифференцированной хордомы (МКБ-О: 9372/3).

Заключение

Классификация нотохордальных опухолей, включая хордому, предложенная в последней редакции (5-й пересмотр) Международной классификации опухолей мягких тканей и костей в целом адекватна современному уровню достижений в медицине и, следует согласиться с общим мнением [13], отвечает практическим потребностям.

Следует поддержать декретирование в нынешней редакции классификации ВОЗ изменение оценки хордоидной хордомы, которая рассматривается не как особый тип опухоли, а как ее дополнительный гистологический вариант (подтип), не имеющий самостоятельного клинического значения. С учетом современных представлений в онкологии кажется анахронизмом употребление традиционного обозначения «дедифференцированная» хордома. В этой хордоме мы наблюдаем, по существу,

не ее дедифференцировку, а повышение степени анаплазии, что существенно отражается на клинической значимости и должно быть отражено в названии. Рядом с этим также кажется не вполне логичным обозначение «плохо дифференцированная» хордома для нового типа опухоли, которая вводится в классификацию не по гистологическому (гистогенетическому), а молекулярно-генетическому основанию (делеция INI1/SMARCB1). Однако эта опухоль чрезвычайно редкая, обсуждается в мировой литературе по единичным наблюдениям, преимущественно у детей, и изучена очень мало. В нашем материале эта опухоль не встретилась.

Хордома в силу своей осевой локализации закономерно вовлекает прилежащие структуры нервной системы, имеет клинически значимые нейропатологические проявления и часто предъявляет прямые показания для специального нейрохирургического пособия. Это требует ее специального рассмотрения не только как костной, но и нейрохирургической онкологической патологии наряду с другими неменингеальными (мезенхимальными) опухолями ЦНС.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — В.С. Сидорин;
Сбор и обработка материала — В.С. Сидорин, А.В. Ефимов, К.А. Стрелкина, Т.В. Соколова, А.Ю. Орлов, Ю.М. Забродская;

Статистическая обработка данных — А.В. Ефимов, К.А. Стрелкина;

Написание текста — В.С. Сидорин, А.В. Ефимов, К.А. Стрелкина, Ю.М. Забродская;

Редактирование — В.С. Сидорин, Ю.М. Забродская, А.Ю. Орлов

Работа выполнена в рамках государственного задания ИМИЦ им. В.А. Алмазова по теме №34 (Рег. №АААА-А19-119070490030-6).

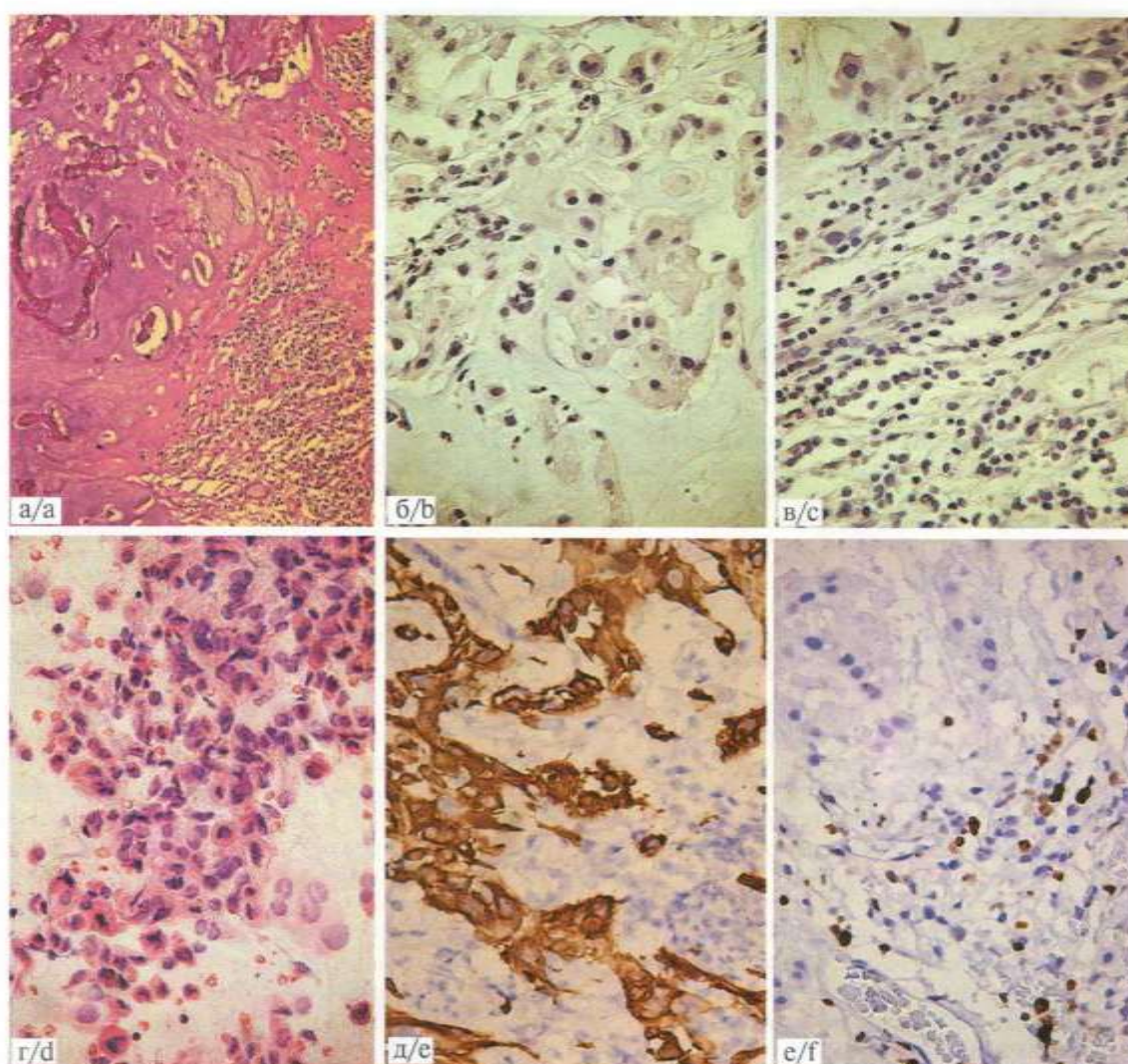


Рис. 5. Дедифференцированная хордома хиазмально-селлярной области.

а — бифазное строение опухоли с сочетанием участков саркоматозного (внизу справа) и типичного хордоидного вида с миксоидным матриксом. PAS-реакция, $\times 100$; б — гнезное расположение хордоидных клеток в окружении миксоидного матрикса. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; в — участок опухоли саркоматозного вида с плеоморфизмом, ядерной и клеточной атипией. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$; г — цитологический препарат-отпечаток интраоперационной биопсии с ядерной и клеточной атипией. Видны фигуры митоза. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; д — экспрессия цитокератина в фазе опухоли с нотохордальной дифференцировкой, $\times 200$; е — усиленная ядерная экспрессия Ki67 в фазе опухоли саркоматозного вида, $\times 200$.

Fig. 5. Dedifferentiated chordoma of the chiasmatic-sellar area.

а — biphasic tumor stratification with a combination of areas of sarcomatous (bottom right) and typical chordoid appearance with a myxoid matrix. PAS-reaction, $\times 100$; б — nests of chordoma cells surrounded by a myxoid matrix. H&E, $\times 400$; в — a sarcomatous tumor area with pleomorphism, nuclear and cell atypia. H&E, $\times 200$; д — cytological preparation (smear imprint) of intraoperative biopsy demonstrates manifestations of nuclear and cell atypia. Mitosis figures are visible. H&E, $\times 400$; е — cytokeratin expression in the tumor phase showing notochordal differentiation, $\times 200$; е — enhanced nuclear expression of Ki67 in the sarcomatous phase of the tumor, $\times 200$.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Flanagan AM, Yamaguchi T. Notochordaltumours. In: Christopher DM, et al, eds. *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone*. 4th ed. Lyon: IARC; 2013;325-9.
2. Tirabosco R, O'Donnell PG, Yamaguchi T. Conventional chordoma. In: *WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. WHO classification of tumours*. 5th ed. vol. 3. Lyon: IARC; 2020;451-453.
3. Соловьев Ю.Н. Хордома. *Архив патологии*. 1999;61(5):65-69. Solovyev YN. Chordoma. *Arkhiv Patologii*. 1999;61(5):65-69. (In Russ.).
4. Yamaguchi T, Suzuki S, Ishiwa H, Ueda Ueda Y. Intraosseous benign notochordal cell tumours: overlooked precursors of classic chordomas? *Histopathology*. 2004;44(6):597-602. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2004.01877.x>

5. Григорьевский В.В. Современная классификация опухолей костей ВОЗ (IV издание, 2013 г.). Комментарии патолога. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2015;4:103-20. Grigorovskii VV. Modern classification of bone tumors WHO (IV ed., 2013). Comments of pathologist. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics = Ortopediya, travmatologiya i ortopediya*. 2015;(4):103-120. (In Russ.). <https://doi.org/10.15674/0030-598720154103-120>
6. Park HH, Lee K-S, Ahn SJ, Suh SH, Hong C-K. Ectodermis-physaliphora: typical and atypical radiologic features. *Neurosurg Rev*. 2017;40(1):87-94. <https://doi.org/10.1007/s10143-016-0753-4>
7. Yamaguchi T, Inwards CY, Tirabosco R. Benign notochordal cell tumour. In: *WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. WHO classification of tumours*. 5th ed. vol. 3. Lyon: IARC; 2020;449-451.
8. Kreshak J, Larousserie F, Picci P, Boriani S, Mirra J, Merlino B, Brunocilla E, Vanel D. Difficulty distinguishing benign notochordal cell tumor from chordoma further suggests a link between them. *Cancer Imaging*. 2014;14(1):4. <https://doi.org/10.1186/1470-7330-14-4>
9. Нейштадт Э.Л., Маркочев А.Б. *Опухоли и опухолеподобные заболевания костей*. СПб.: Фолиант; 2007. Neishtadt EL, Markochev AB. *Tumors and tumor-like bone diseases*. SPb.: Foliant; 2007. (In Russ.).
10. Szövérfi Z, Lazáry A, Varga PP. Primary spinal tumor registry at the national centre for spinal disorders. *Orv Hetil*. 2014;155(19):745-749. <https://doi.org/10.1556/Orv.2014.29920>
11. Коновалов А.Н., Сидоркин Д.В., Шкарубо А.Н., Усачев Д.Ю., Махмудов У.Б. *Хордомы основания черепа и краниовертебрального перехода*. М. 2014. Konovalov AN, Sidorkin DV, Shkarubo AN, Usachov DYU, Machmudov YUB. *Chordomas of the base of the skull and craniovertebral junction*. M. 2014. (In Russ.).
12. Шкарубо А.Н., Андреев Д.Н., Коновалов А.Н., Лубнин А.Ю., Зеленков П.В., Туркин А.М., Кадашев Б.А., Сидоркин Д.В., Воронина И.А., Коваль К.В., Карнаухов В.В. Тактика хирургического лечения опухолей основания черепа, распространяющихся на краниовертебральное сочленение. *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко*. 2016;80(2):21-34. Shkarubo AN, Andreev DN, Konovalov NA, Lubnin AYU, Zelenkov PV, Turkin AM, Kadashev BA, Sidorkin DV, Voronina IA, Koval' KV, Karnaukhov VV. The algorithm for surgical treatment of skull base tumors invading the craniovertebral junction. *Burdenko's Journal of Neurosurgery = Zhurnal Voprosy Neurokhirurgii imeni N.N. Burdenko*. 2016;80(2):21-34. <https://doi.org/10.17116/neiro201680221-34>
13. Anderson WJ, Doyle LA. Updates from the 2020 World Health Organization Classification of Soft Tissue and Bone Tumours. *Histopathology*. 2021;78(5):644-657. <https://doi.org/10.1111/his.14265>
14. Tirabosco R, Hameed M. Dedifferentiated chordoma. In: *WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. WHO classification of tumours*. 5th ed. vol. 3. Lyon: IARC; 2020;454-455.
15. Nielsen GP, Dickson BC, Tirabosco R. Poorly differentiated chordoma. In: *WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. WHO classification of tumours*. 5th ed. vol. 3. Lyon: IARC; 2020;456-457.
16. Матко Д.Е. Саркомы костей: классификация, гистологическое строение, особенности морфологической диагностики. *Практическая онкология*. 2010;11(1):1-10. Matsko DE. Bone sarcomas: classification, histological structure, features of morphological diagnostics. *Practical oncology = Prakticheskaya onkologiya*. 2010;11(1):1-10. (In Russ.).
17. Owosho AA, Zhang L, Rosenblum MK, Antonescu CR. High sensitivity of FISH analysis in detecting homozygous SMARCB1 deletions in poorly differentiated chordoma: a clinicopathologic and molecular study of nine cases. *Genes Chromosomes Cancer*. 2018;57(2):89-95. <https://doi.org/10.1002/gcc.22511>
18. Huang J, Yang TT, Jiang ZM, Zhang HZ. Clinicopathological features of notochordal tumors: a study of 48 cases. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2021;50(3):201-206. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112151-20201202-00891>
19. Rekhi B, Michal M, Ergen FB, Roy P, Puls F, Haugland HK, Soylemezoglu F, Kosemehmetoglu K. Poorly differentiated chordoma showing loss of SMARCB1/INI1: Clinicopathological and radiological spectrum of nine cases, including uncommon features of a relatively under-recognized entity. *Ann Diagn Pathol*. 2021;55:151809. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2021.151809>

Поступила 01.12.2021

Received 01.12.2021

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Интерпретация биопсийного материала после трансуретральной и лазерной резекции единым блоком немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря

© Л.О. СЕВЕРГИНА¹, Д.А. КИСЛЯКОВ², И.А. КОРОВИН¹, Н.И. СОРОКИН³

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва, Россия;

²Воскресенская районная больница №2, Воскресенск, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Рак мочевого пузыря — одно из наиболее распространенных онкологических урологических заболеваний, занимающее 2-е место по частоте встречаемости среди всех опухолей мочевыделительной системы после рака простаты. На момент выявления первичной опухоли примерно у 75% пациентов отсутствует инвазия в мышечный слой (немышечно-инвазивная карцинома), при этом опухолевый рост ограничен слизистой оболочкой (стадия Ta) или подслизистой основой (стадия T1). Удаление опухоли единым блоком (лазерная en-bloc резекция или L-ERBT) в отличие от рутинной трансуретральной резекции позволяет получить качественный биопсийный материал для точного патоморфологического стадирования опухолевого процесса. Для точной стратификации пациента в ту или иную группу риска необходима верификация следующих морфологических параметров: степень дифференцировки опухоли и ее злокачественности, глубина инвазии, фокусы карциномы *in situ* в краях резекции, наличие или отсутствие лимфоваскулярной инвазии; также рекомендуется выявление фокусов вариантной гистологии опухоли. В морфологическом заключении необходима информация о наличии или отсутствии элементов детрузора в препарате, так как этот параметр считается критерием радикально выполненного удаления опухоли. Согласно рекомендациям ICCR (International Collaboration on Cancer Reporting) применять субклассификацию стадии T1 следует, используя все возможные критерии, при этом учитывать объем и/или глубину инвазии (в мм), и/или ширину участка с инвазией (в мм), и/или вовлеченность анатомической структуры — собственной мышечной пластинки. Полноценное морфологическое исследование материала, полученного в ходе первичной резекции опухоли, позволяет стратифицировать пациента в ту или иную группу риска и соответственно разработать тактику персонализированного послеоперационного ведения.

Ключевые слова: немышечно-инвазивный рак мочевого пузыря, трансуретральная резекция, лазерная резекция опухоли единым блоком, морфологическая оценка, субклассификация T1 рака мочевого пузыря.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Севергина Л.О. — <https://orcid.org/0000-0002-4393-8707>

Кисляков Д.А. — <https://orcid.org/0000-0002-7381-7084>

Коровин И.А. — <https://orcid.org/0000-0003-4009-346X>

Сорокин Н.И. — <https://orcid.org/0000-0001-9466-7567>

Автор, ответственный за переписку: Севергина Л.О. — e-mail: losevergina@gmail.com

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Севергина Л.О., Кисляков Д.А., Коровин И.А., Сорокин Н.И. Интерпретация биопсийного материала после трансуретральной и лазерной резекции единым блоком немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. *Архив патологии*. 2022;84(3):32–39. <https://doi.org/10.17116/patol20228403132>

Interpretation of biopsy material after transurethral and laser en bloc resection of non-muscle-invasive bladder cancer

© L.O. SEVERGINA¹, D.A. KISLYAKOV², I.A. KOROVIN¹, N.I. SOROKIN³

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

²Voskresensk district hospital No. 2, Voskresensk, Russia;

³Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

ABSTRACT

Bladder cancer is one of the most common onco-urological diseases, ranked second in frequency among all tumors of the urinary system after prostate cancer. At the time of detection of the primary tumor, approximately 75% of patients have no invasion into the muscularis layer (non-muscle-invasive carcinoma), with tumor growth limited to the basal membrane (stage Ta) or submucosal base (stage T1). Removal of the tumor in a «unified block» (laser en-bloc resection or L-ERBT), unlike routine transurethral resection, allows to obtain qualitative biopsy material for precise pathomorphological staging of the tumor process. In order to accurately stratify a patient into one or another risk group, verification of the following morphological parameters is required: degree of tumor differentiation and its malignancy, depth of invasion, foci of carcinoma *in situ* at resection margins, presence or absence of lymphovascular invasion. Identification of tumor variant histology is also recommended. Information on presence or absence of detrusor elements in the specimen is necessary in the morphological report, as this parameter is considered as a cri-

terion of radically performed tumor removal. According to ICCR recommendations (International Collaboration on cancer reporting), it is recommended to use subclassification of T1 stage using all possible criteria: volume and/or depth of invasion (assessed in mm), and/or width of invasion «spot» (assessed in mm), and/or involvement of anatomical structure — muscularis mucosae. Full morphological examination of the material obtained during the primary resection of the tumor is an important step in the diagnosis and treatment of bladder cancer, as it allows to stratify the patient into one or another risk group and, accordingly, allows to develop a personalized postoperative management.

Keywords: non-muscle-invasive bladder cancer, transurethral resection, laser en-bloc resection, morphological verification, T1 substaging of bladder cancer.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Severgina L.O. — <https://orcid.org/0000-0002-4393-8707>

Kislyakov D.A. — <https://orcid.org/0000-0002-7381-7084>

Korovin I.A. — <https://orcid.org/0000-0003-4009-346X>

Sorokin N.I. — <https://orcid.org/0000-0001-9466-7567>

Corresponding author: Severgina L.O. — e-mail: losevergina@gmail.com

TO CITE THIS ARTICLE:

Severgina L.O., Kislyakov D.A., Korovin I.A., Sorokin N.I. Interpretation of biopsy material after transurethral and laser en bloc resection of non-muscle-invasive bladder cancer. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):32–39. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403132>

Рак мочевого пузыря (РМП) — одно из наиболее распространенных онкологических урологических заболеваний, занимающее 2-е место по частоте встречаемости среди всех опухолей мочевыделительной системы после рака простаты [1]. В группе всех злокачественных новообразований РМП занимает 10-е место среди представителей обоих полов и 7-е место среди мужского населения [2]. В Российской Федерации доля РМП в общей структуре злокачественных новообразований составляет около 2,8%; среди злокачественных опухолей у мужчин РМП находится на 9-м месте, у женщин — на 18-м [3, 4]. На момент выявления первичной опухоли примерно у 75% пациентов отсутствует инвазия в мышечный слой (немышечно-инвазивный рак — НМИР), при этом опухолевый рост ограничен слизистой оболочкой (стадия Ta) или подслизистой основой (стадия T1); у более молодых пациентов (моложе 40 лет) этот процент еще выше [5].

Одной из многообещающих методик хирургического лечения больных НМИР, приходящих на смену рутинной трансуретральной резекции (ТУР), является удаление опухоли единым блоком (лазерная en-bloc-резекция или L-ERBT). Возможности данной хирургической техники достаточно широки: применение L-ERBT позволяет не только удалить все видимые образования, но и получить качественный биопсийный материал для точного патоморфологического стадирования опухолевого процесса. Морфологическое исследование материала, полученного в ходе первичной резекции опухоли, является важным этапом в диагностике и лечении РМП, поскольку позволяет и стратифицировать пациента в ту или иную группу риска, и разработать тактику его персонализированного послеоперационного ведения [6]. Наиболее значимым критерием качества резекции опухоли считается наличие элементов (пучков) детрузора (detrusor muscle — DM) в макропрепарате, что и позволяет исключить мышечно-инвазивный рак. Статистически доказана корреляция DM в биоптате и некорректным стадированием процесса, а также и рецидивированием опухоли [7]. Таким образом, необходимо отмечать наличие детрузора в патоморфологическом заключении, поскольку этот параметр является крайне важным, в значительной степени определяющим дальнейшую

лечебную тактику. Патоморфологическая стадия T (глубина инвазии), дифференцировка опухоли (параметр G) и степень ее злокачественности — основные морфологические критерии для стратификации пациента по группам риска. При отсутствии детрузора в биоптате достоверная оценка критерия T не представляется возможной (Tx), а при выраженном термическом повреждении препарата (артифициальные коагуляционные изменения) может быть затруднительна и градация по критерию G. Также не менее важными морфологическими характеристиками являются наличие вариантной гистологии (VN), сопутствующих фокусов карциномы *in situ* (CIS), лимфоваскулярной (LVI) и перинеуральной (Pn) инвазии. Присутствие этих дополнительных параметров переводит пациента в подгруппы высокого или наивысшего риска и требует более агрессивного лечения (немедленная радикальная цистэктомия или 3-летний курс БЦЖ) [8].

В последнее время в диагностике НМИР все большее значение придается углубленной морфологической оценке опухоли, поскольку именно она позволяет прогнозировать течение опухолевого процесса и правильно выбирать меры профилактики рецидивирования и прогрессирования [6]. В связи с этим полноценное и более точное исследование биоптата с включением перспективных, дополнительных морфологических характеристик, таких как субклассификация по критерию T1 и детализированная оценка края резекции, приобретает очень важное значение [9].

Исходя из исключительной важности корректной стратификации пациента в группу риска, важно правильно расставить приоритеты, формулируя морфологическое заключение. При этом важно отметить, что полноценная гистологическая оценка экзофитной части опухоли имеет важное значение: в этой части биоптата возможно определение критерия G — степени дифференцировки/злокачественности опухоли, а также VN. Однако ключевую роль в патоморфологическом исследовании имеет подробная оценка морфологических параметров блока «основание опухоли + резецированная стенка». Именно по этой части биоптата можно адекватно определить стадию T (достоверная оценка уровня инвазии), LVI, Pn и CIS, наличие DM, т.е. всех основных морфологических характеристик опухоли. Хотелось

бы отметить некоторые анатомические и возрастные особенности строения стенки мочевого пузыря, которые могут оказать влияние на корректность морфологического заключения, а также выявляемость DM. Так, следует иметь в виду, что в области верхушки пузыря и его дна собственный мышечный слой менее выражен; кроме того, у больных пожилого и старческого возраста (так называемые сенильные пациенты), особенно у женщин, мышечные волокна, формирующие детрузор, обычно тонкие, а толщина их пучков неоднородна, что приводит к «смазанности» границы поверхностного и наружного мышечного слоев, затрудняет оценку инвазии и стадирование опухоли.

Отдельно следует остановиться на особенностях оперативного лечения и морфологической характеристике опухолей, размер экзофитной части которых составляет 30 мм или более. При отсутствии достоверных клинических данных о наличии инвазии опухоли (так называемый слой на дооперационном этапе (стадии Ta-T1) крайне важно получить операционный материал высокого качества для точного морфологического стадирования. Это продиктовано тем соображением, что опухоли размером более 30 мм по результатам гистологической оценки чаще оказываются мышечно-инвазивными, клинически они, как правило, характеризуются более агрессивным поведением по сравнению с опухолями небольшого размера и имеют худший прогноз [10], хотя иногда встречаются опухоли большого объема с низким потенциалом злокачественности [9]. Согласно всем актуальным рекомендациям, наличие у пациента опухоли размером 30 мм и более автоматически помещает его в группу высокого риска, что требует более активной тактики лечения по сравнению с пациентами низкого и промежуточного риска [8, 11–13]. Согласно существующим рекомендациям, большой размер опухоли считается противопоказанием к L-ERBT в связи с трудностями удаления опухоли и последующего извлечения отсеченного макропрепарата по тубусу резектоскопа. При удалении крупных опухолей стадии Ta-T1 предлагается выполнять традиционную TUR [14] с послойной резекцией как экзофитной части опухоли, так и области ее основания в виде так называемых чипсов. Во многих исследованиях есть информация о том, что при TUR-опухоли происходит выраженное коагуляционное повреждение макропрепарата и это значительно затрудняет оценку не только критерия G, но и стадии опухолевого процесса (параметра T) из-за фрагментации основания опухоли [15–17]. В этих случаях частота указания в морфологическом заключении на наличие термического повреждения, или «артефакта коагуляции», варьирует, по данным литературы [18, 19], от 25 до 66%. Также было показано, что при гистологической оценке опухолей большого размера артефактные изменения в патоморфологических заключениях описываются чаще по сравнению с небольшими опухолями [20]. При наличии артефактов коагуляции некорректное стадирование опухолевого процесса составляет около 50% [17].

В отличие от TUR применение методики лазерной энблос-резекции позволяет сохранить цельность как экзофитной части опухоли, так и ее основания. Говоря о качественном морфологическом исследовании препарата после L-ERBT, следует упомянуть о необходимости корректной ориентации блока «опухоль + резецированная стенка» в процессе вырезки биопсийного материала с целью получения срединного, продольно ориентированного среза. Технические аспекты фиксации материала (в част-

ности, методика «пенопласт») были представлены в одной из предыдущих публикаций [21].

Как уже упоминалось выше, для точной стратификации пациента в ту или иную группу риска необходима полноценная верификация следующих морфологических параметров удаленной опухоли: степень ее дифференцировки (параметр G) и злокачественности, глубина инвазии (критерий T), фокусы карциномы *in situ* в краях резекции (CIS), наличие или отсутствие лимфоваскулярной инвазии (LVI), а также перитуморозной воспалительной реакции. Кроме того, помимо «чистой» уротелиальной карциномы, рекомендуется выявление фокусов вариантной гистологии опухоли (VH) — гнездный, саркоматоидный, плазмощитоидный, микропапиллярный варианты. Помимо указанных параметров в патоморфологическом заключении необходима информация о наличии или отсутствии элементов детрузора в макропрепарате, так как этот параметр считается суррогатным критерием радикально выполненной резекции опухоли. Отсутствие данных о DM в заключении морфолога ассоциировано с наличием резидуальных опухолей, некорректным стадированием опухолевого процесса и ранним рецидивом и вынуждает выполнять реTUR в сроки 2–6 нед (кроме опухолей Ta, G1/LG) [7].

В настоящее время широкое распространение получили две системы градации опухоли: традиционная, представленная еще в 1973 г. WHO с определением степени дифференцировки опухоли (grade) — G1-3, и более поздняя версия WHO 2004/2016 гг., основанная на оценке степени злокачественности опухоли — LG и HG. Обе системы доказали свою эффективность в плане предиктора прогрессии, но ни одна из них не продемонстрировала перед другой абсолютных преимуществ [22]. Многие морфологи отмечают сложности в системе оценки качественной характеристики опухоли за счет наличия двух конкурирующих систем. Анализ данных 5145 пациентов из 17 центров Европы и Канады показал превосходство использования обеих систем одновременно над каждой в отдельности; согласно актуальным на 2021 г. рекомендациям EAU, необходимо применять обе системы оценки при формулировке патоморфологического заключения [23]. Для определения степени дифференцировки опухоли достаточно ее экзофитной части. Однако за счет выраженного термического повреждения при использовании методики TUR встречаются трудности с интерпретацией выявленных изменений. Некорректное стадирование по G-критерию может оказать существенное влияние на прогноз пациента, что особенно важно при G3/HG-опухолях, когда может быть упущено время для своевременного выполнения радикальной цистэктомии. Для качественной оценки G-критерия необходимо исследовать достаточный объем экзофитной части опухоли, так как она может быть морфологически неоднородной и при детальном исследовании всего объема опухолевой ткани возможно выявление менее дифференцированных, т.е. более злокачественных фокусов. В данном случае патоморфолог должен достоверно оценить объем менее дифференцированных участков в общей массе опухолевой ткани для ее корректной верификации. В связи с этим важно исследовать по возможности как можно больший объем опухоли, что требует проведения многочисленных серийных срезов биоптата.

Идентификация вариантной гистологии в экзофитной части уротелиальной карциномы также напрямую зависит от количества и качества опухолевой ткани, удаленной

во время операции, опыта морфолога, а также от того, насколько тщательно исследуется операционный материал. В работе Abd El-Latif и соавт. [24] оценивалась чувствительность методики ТУР при выявлении различных гистологических вариантов уротелиальной карциномы. При анализе биопсийного материала от 302 пациентов, которым сначала была выполнена диагностическая ТУР, а затем радикальная цистэктомия, показано, что выявление вариантной гистологии не было диагностировано как минимум в половине биоптатов. Например, гнездный вариант карциномы, диагностированный в материале после цистэктомии, после первичной ТУР был выявлен только в 21% случаев. Пересмотр биопсийного материала после радикальной цистэктомии показал способность ТУР репрезентировать точную морфологию примерно в 43% случаев. Авторы подчеркивают, что низкая выявляемость VH при ТУР была прежде всего результатом плохого качества полученного материала, его фрагментированности и выраженным термическим повреждением [24]. Интересно, что пересмотр биопсийного материала пациентов, у которых была выявлена VH после радикальной цистэктомии, показал некорректное стадирование опухоли в 39% случаев при его исследовании после ТУР. Однако важно отметить, что квалификация морфолога также имеет большое значение для определения VH. Так, в работе R.B. Shah [25] показано, что процент реального присутствия редких случаев VH в препарате не коррелирует с их выявляемостью — такие варианты, как гнездный и микропапиллярный, часто были нераспознаны морфологами даже при большом их объеме в биоптате, однако были выявлены при последующем пересмотре материала.

Оценка глубины инвазии опухоли (критерий T) крайне важна для лечащего врача, поскольку она играет ключевую роль в достоверной стратификации пациента по группе риска. Согласно классификации TNM 2009 г., обновленной в 2017 г. (8-я редакция), по глубине инвазии НМИР подразделяется на Ta (опухоль ограничена базальной мембраной), T1 (опухоль прорастает в субэпителиальную соединительную ткань, но не достигает мышечного слоя) и Tis (carcinoma *in situ*) [26]. T-критерий не удается определить при исследовании только экзофитной части опухоли; это возможно лишь в хорошо визуализируемом основании опухоли, в блоке «опухоль + резецированная стенка». В связи с этим крайне важной проблемой для хирурга является обеспечение достаточной глубины резекции с обязательным забором в макропрепарат как минимум поверхностного слоя DM. Учитывая тот факт, что опухоль может иметь различную глубину инвазии в разных участках, необходимо оценивать весь блок «опухоль + резецированная стенка», что возможно лишь с использованием серийных (мультиплицированных) срезов, проходящих продольно через корректно ориентированный блок «опухоль + резецированная стенка». Очевидно, что именно операция L-ERBT позволяет максимально сохранить зону основания опухоли, а также обеспечить последующую адекватную морфологическую оценку, включая выявление лимфоваскулярной инвазии (LVI). Поскольку сосудистый компонент присутствует в lamina propria, а также хорошо выражен в подслизистой основе и мышечном слое, важно уделять пристальное внимание данному параметру. Как известно, LVI — это важная характеристика опухоли, определяющая ее потенциальное лимфогенное распространение. Ее выявление ассоциировано с повышением стадии заболевания, потенциальной радикальной цистэктомией, а также худшим прогнозом.

Обсуждая необходимость сохранения целостности основания опухоли и тканей подлежащей стенке пузыря, невозможно не упомянуть особенности оценки наиболее глубокого вертикального края резекции удаленной опухоли, в патоморфологическом заключении обязательно должна быть отмечена информация о присутствии или отсутствии пучков DM в основании опухоли [8]. С одной стороны, наличие DM в биоптате является критерием качественно выполненной первичной резекции, его присутствие может свидетельствовать о радикальном удалении опухоли, а также позволяет исключить мышечно-инвазивный рак. В то же время наличие интактных волокон мышечного слоя не всегда гарантирует инвазии в мышечный слой в других фрагментах. Методика послойного удаления опухолей (ТУР) не исключает оставшиеся фрагменты опухоли в области кратера резекции даже при наличии элементов DM в макропрепарате [7]. Было показано, что если в биоптате, полученном во время первичной резекции, отсутствовал детрузор, частота мышечно-инвазивного рака может составлять до 45% [27, 28]. Наибольшее значение присутствия DM имеет в патоморфологическом заключении при опухолях T1. Поскольку в большом количестве опухолей стадии T1 регистрируются высокий потенциал злокачественности (HG) и низкая степень дифференцировки (G2-3), при лечении данной категории больных крайне важно иметь уверенность в полноте резекции, отсутствии не только инвазии в мышечный слой, но и дополнительных негативных характеристик опухоли (LVI, CIS, VH). Данные параметры крайне важны, поскольку для этой категории больных характерно наибольшее количество некорректного стадирования процесса (у части из них истинная стадия была T2 и выше), а основным методом лечения является длительная курсовая БЦЖ-терапия; кроме того, у части больных (группа наивысшего риска) наиболее целесообразно проведение радикальной цистэктомии [29–31]. В настоящее время во всех действующих рекомендациях советуется выполнять операцию реТУР не только при опухолях стадии T1, но и при отсутствии DM в основании опухоли после первичной резекции [8, 11–13, 17]. Также следует отметить, что тип оперативного вмешательства напрямую влияет на частоту выявляемости DM: в противовес классической ТУР, при которой присутствие в его биоптатах даже в специализированных онкологических центрах, не превышает 49–60%, при методике L-ERBT пучки детрузора определяются в основании опухоли в 96–100% случаев [32–36].

В рамках развернутой морфологической оценки удаленной опухоли большое значение придается наличию в биоптате фокусов тяжелой дисплазии уротелия. Так называемую плоскую карциному, или карциному *in situ* (CIS), при цистоскопии можно визуально не отличить от нормальной слизистой оболочки или от воспалительных изменений. Фокусы CIS могут быть выявлены во фрагментах слизистой оболочки, прилегающей к удаленной опухоли, а также при ТУР-биопсии или щипковой биопсии подозрительных участков. Обнаружение фокусов сопутствующей CIS вблизи резецированной опухоли кардинальным образом меняет тактику дальнейшего лечения пациента. Поскольку единственным действенным методом лечения CIS (помимо цистэктомии) является БЦЖ-терапия, а трансуретральное хирургическое лечение проводится в связи с выявлением рецидивов, крайне важно диагностировать фокусы CIS по итогам первичной операции. Несмотря на то что применяемые в настоящее время методы улучшенной визуализации (ФДД, NBI, Image1 S)

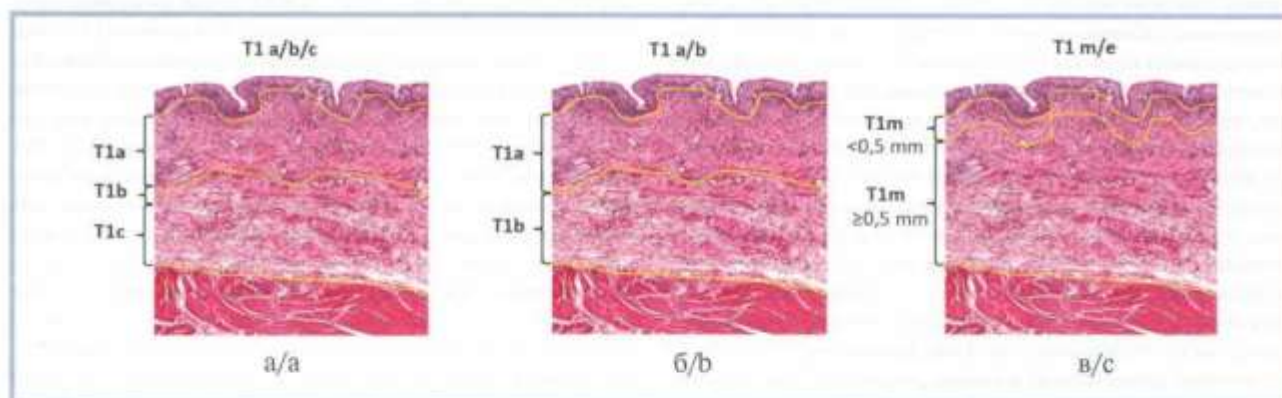
значительно облегчают определение CIS еще на клиническом этапе, расширенная резекция края слизистой оболочки, прилегающей к опухоли, имеет очень важное значение, поскольку морфологическое заключение в данном случае является определяющим. Следует отметить, что хотя детальная оценка края резекции давно и широко используется в онкоморфологии, ее применение при НМИР до последнего времени было ограничено возможностями ТУР как основного метода оперативного лечения; с активным внедрением в клиническую практику L-ERBT появилась возможность достоверной оценки края резекции опухолей мочевого пузыря. Что касается техники этой операции, то отступ в 5 мм от основания опухоли является официально рекомендованным при ее проведении; на основании нашего опыта и собственных разработок мы можем рекомендовать расширение отступа до 10 мм — это позволит значительно раздвинуть «горизонты морфологического обзора». В недавно опубликованной работе А. Eissa и соавт. [37], посвященной возможности оценки края резекции при L-ERBT у больных неинвазивным раком мочевого пузыря, край резекции удалось достоверно проследить у 43 (86%) из 50 пациентов. В 48% случаев отмечен негативный край резекции, в 32% выявлена дисплазия уротелия в горизонтальном крае резекции, в 6% обнаружен рост карциномы в горизонтальном крае резекции (положительный край резекции). Необходимо отметить, что при выполнении операции отступ от края опухоли традиционно составлял 5 мм. По итогам исследования не была выявлена статистически значимая корреляция между изменениями в крае резекции и развитием рецидива опухоли, однако наблюдалась тенденция к увеличению частоты рецидивов у пациентов с дисплазией уротелия в крае слизистой оболочки и при положительном хирургическом крае.

В качестве перспективного, дополнительного морфологического параметра, применяемого в рамках детализированной оценки основания удаленной опухоли, следует отметить субклассификацию стадии T1. Исторически критерии первой субклассификации стадии T1 при НМИР предложил Mamoun Younes еще в 1990 г., а в настоящее время ее называют «T1a/b/c». В ее основе лежало субстадирование, основанное на выявлении анатомической структуры — мышечной пластинки слизистой оболочки (muscularis

mucosae — MM). Согласно этой субклассификации, уровни инвазии T1 подразделяются на: T1a — инвазия до MM, T1b — инвазия в толщу MM и T1c — инвазия через всю толщу MM в подслизистую основу, но не доходя до мышечной оболочки стенки (muscularis propria, MP) [38]. В 2005 г. была опубликована новая метрическая субклассификация, в основу которой положена глубина инвазии опухоли. Согласно предложенным критериям, стадию T1 подразделяют на T1minimal (T1m) с максимальной глубиной инвазии до 0,5 мм и T1extensive (T1e) с глубиной инвазии более 0,5 мм. Измерение рекомендуется проводить в пределах одного поля зрения при большом увеличении с использованием объектива $\times 40$ [39].

Следует подчеркнуть, что при оценке критерия G (качественной характеристики) инвазивных опухолей pT1 трудно избежать субъективизации — как занижения, так и завышения степени дифференцировки и злокачественности. Кроме того, в исследовании Е.М. Comptat и соавт. [40] подчеркивается сложность корректной морфологической верификации таких опухолей с учетом глубины их инвазии даже для группы опытных патологов. Оценка карпа, используемая как критерий воспроизводимости одного и того же заключения между разными морфологами (индекс согласия), варьировала от 0,42 до 0,6 (среднее значение 0,49); при полном совпадении этот индекс составляет 1. Таким образом, можно говорить об определенных сложностях при проведении корректного стадирования опухолей — pT1. В связи с этим отмечается важное прогностическое значение использования дополнительной оценки глубины инвазии опухолей — субклассификации стадии T1 особенно с учетом анатомических ориентиров, что может повысить достоверность морфологической верификации [41, 42]. Согласно рекомендациям ICCR (International Collaboration on Cancer Reporting), в субклассификации стадии T1 можно использовать все возможные критерии: рекомендуется ориентироваться на объем или глубину инвазии (в мм), и/или ширину «пятна» инвазии (в мм), и/или вовлеченность анатомической структуры — MM [43].

Помимо наиболее распространенных и упомянутых выше двух субклассификаций (T1a/b/c и T1m/e), в последние годы получила распространение так называемая упрощенная субклассификация, включающая только T1a-



Варианты субклассификации стадии T1 рака мочевого пузыря.

Анатомические варианты оценки: а — традиционные субстадии T1a/b/c; б — упрощенные субстадии T1a/b; в — метрический вариант оценки с замером глубины инвазии (T1m/e).

Subclassification options for stage T1 bladder cancer.

Anatomical assessment options: а — traditional substages T1a/b/c; б — simplified substages T1a/b; в — metric version of the assessment with measurement of the invasion depth (T1m/e).

и T1b-субстадии (рисунок). Такой вариант оценки избавляет морфолога от необходимости более скрупулезного и продолжительного по времени изучения наличия инвазии опухоли непосредственно в толщу ММ, что всегда представляет определенные трудности и имеет значительный отпечаток субъективизма. В упрощенном варианте субклассификации ключевым различием субстадий является интактность ММ, что соответствует T1a; инвазия опухоли как в ее толщу, так и в более глубокий слой (подслизистую основу стенки) трактуется как T1b.

Следует упомянуть проспективное исследование, включающее 200 пациентов, проведенное А. Orsola и соавт. [44], в котором для стратификации больных по группам риска впервые широко использовалась упрощенная субклассификация T1 (T1a/b). В T1a-субстадию включались инвазивные опухоли, не достигающие ММ, а в T1b — опухоли, инвазирующие ММ и подслизистую основу, неходя до МР. Хотя последующее наблюдение за пациентами было ограничено по времени, в первоначальном отчете сообщается, что T1-субклассификация была весьма значимым предиктором прогрессирования опухоли при многофакторном анализе. Авторы пришли к следующему выводу: при опухолях высокой степени злокачественности (HG) стадии T1 выполнение реТУР только при T1b-субстадии позволило снизить общий уровень прогрессирования до 15,5%. В целом опухоли HG с относительно глубоким уровнем инвазии, т.е. T1b-субстадии, продемонстрировали трехкратное увеличение риска развития рецидива и прогрессирования. Авторы рекомендуют рутинное использование упрощенной субклассификации T1; кроме того, пациенты с опухолями HG и T1b-субстадии должны быть обследованы более тщательно как вероятные кандидаты для радикальной цистэктомии. Не так давно были опубликованы результаты метаанализа 36 исследований за период с 1994 по 2018 г., в который

вошел 6781 пациент с НМИР стадии T1. В исследование были включены все три действующие субклассификации стадии T1: метрическая (T1m/T1e), а также основанные на выявлении ММ: полная — T1a/b/c и упрощенная — T1a/T1b. Все используемые варианты субклассификации продемонстрировали сильную корреляцию с развитием рецидива и прогрессированием опухоли [45]. Наш собственный опыт применения субстадирования T1 позволяет заключить, что рекомендация ряда авторов использовать в качестве основного ориентира субклассификации количественные показатели с замером всех очагов инвазии создает дополнительные трудности в рутинной работе морфолога. Мы считаем наиболее целесообразным опираться на анатомические ориентиры и оценивать глубину инвазии в зависимости от вовлеченности ММ; использование упрощенного варианта субклассификации (T1a/T1b) при этом наиболее приемлемо. В любом случае применение субклассификации опухолей стадии T1 является перспективным и многообещающим направлением при морфологической оценке биоптатов.

В заключение хотелось бы отметить, что радикальная резекция опухоли является краеугольным камнем при лечении НМИР, так как обеспечивает получение макропрепарата высокого качества — это позволяет провести достоверное морфологическое стадирование опухоли с использованием дополнительных критериев оценки (субклассификация) и вероятностью снижения риска ее прогрессирования с 45 до 4—25% [46]. Кроме того, полноценное морфологическое заключение лежит в основе корректной стратификации пациентов по группам риска, что позволяет разработать тактику персонализированного послеоперационного ведения.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010;60(5):227–300.
- IARC. Cancer Today. Estimated number of new cases in 2020, worldwide, both sexes, all ages. 2021.
- Аксель Е.М., Матвеев В.Б. Статистика злокачественных новообразований мочевых и мужских половых органов в России и странах бывшего СССР. *Онкоурология*. 2019;15(2):15–24. Axel EM, Matveev VB. Statistics of malignant tumors of urinary and male urogenital organs in Russia and the countries of the former USSR. *Oncourologia*. 2019;15(2):15–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2019-15-2-15-24>
- Глухов А.И., Потолдыкова Н.В., Гордеев С.А., Винаров А.З., Поляковский К.А., Рапопорт Л.М., Цариченко Д.Г., +Еникеев Д.В., П.В. Глыбочко П.В. Современные тенденции в диагностике рака мочевого пузыря. *Урология*. 2018;5:100–5. Glukhov AI, Potoldykova NV, Gordeev SA, Vinarov AZ, Polyakovskiy KA, Rapoport LM, Tsarichenko DG, Enikeev DV, Glybochko PV. Modern trends in the diagnosis of bladder cancer. *Urologia*. 2018;(5):100–105. (In Russ.). <https://doi.org/10.18565/urology.2018.5.100-105>
- Compérat E, Larré S, Roupert M, Neuzillet Y, Pignot G, Quintens H, Houéde N, Roy C, Durand X, Varinot J, Vordos D, Rouanne M, Bakhri MA, Bertrand P, Jeglinski SC, Cussenot O, Soulié M, Pfister C. Clinicopathological characteristics of urothelial bladder cancer in patients less than 40 years old. *Virchows Archiv*. 2015;466(5):589–594. <https://doi.org/10.1007/s00428-015-1739-2>
- Paner GP, Montironi R, Amin MB. Challenges in pathologic staging of bladder cancer: proposals for fresh approaches of assessing pathologic stage in light of recent studies and observations pertaining to bladder histological variances. *Adv Anat Pathol*. 2017;24:113. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000152>
- Mariappan P, Zachou A, Grigor KM; Edinburgh Uro-Oncology Group. Detrusor muscle in the first, apparently complete transurethral resection of bladder tumour specimen is a surrogate marker of resection quality, predicts risk of early recurrence, and is dependent on operator experience. *Eur Urol*. 2010;57(5):843–849. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.05.047>
- EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress. Milan, Italy; 2021.
- Hua Liang, Tao Yang, Kaijie Wu, Dalin He, Jinhai Fan. En bloc resection improves the identification of muscularis mucosae in non-muscle invasive bladder cancer. *World J Urol*. 2019;37(12):2677–2682. <https://doi.org/10.1007/s00345-019-02672-3>
- Алексеев Б.Я., Андреева Ю.Ю., Новикова И.В. Факторы прогноза выживаемости у больных немышечно-инвазивным раком мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2013;9(1):34–42.

- Alekseev BY, Andreeva YuYu, Novikova IV. Prognostic factors of survival in non-muscle-invasive bladder cancer. *Oncourologia*. 2013;9(1):34-42. (In Russ.).
11. Министерство здравоохранения Российской Федерации (протокол от 20.12.19 №10/2-3-4). Российские клинические рекомендации. *Рак мочевого пузыря*. 2020. Ministerstva zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii (protokol ot 20.12.19. №10/2-3-4). Russian clinical recommendations. *Bladder cancer*. 2020. (In Russ.).
 12. Chang SS, Boorjian SA, Chou R, Clark PE, Daneshmand S, Konety BR, Pruthi R, Quale DZ, Ritch CR, Seigne JD, Skinner EC, Smith ND, McKiernan JM. Diagnosis and treatment of non-muscle invasive bladder cancer: AUA/SUO guideline. *J Urol*. 2016;196(4):1021-1029. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.06.049>
 13. NCCN Guidelines. Version 3.2021.
 14. Ролевич А.И. Влияние хирурга на безрецидивную выживаемость пациентов, страдающих раком мочевого пузыря без мышечной инвазии. *Онкоурология*. 2016;12(2):40-52. Rolevich AI. Impact of a surgeon on the relapse-free survival of patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Oncourologia*. 2016;12(2):40-52. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2016-12-2-40-52>
 15. Herr HW, Reuter VE. Evaluation of new resectoscope loop for transurethral resection of bladder tumours. *J Urol*. 1998;159:2067-2068. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)63249-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)63249-X)
 16. Lagerveld BW, Koot RA, Smits GA. Thermal artifacts in bladder tumours following loop endoresection: Electrovaporization vs. electrocauterization. *J Endourol*. 2004;18:583-586.
 17. Truong M, Liang L, Kukreja J, O'Brien J, Jean-Gilles J, Messing E. Cautery artifact understages urothelial cancer at initial transurethral resection of large bladder tumours. *Can Urol Assoc J*. 2017;11(5):203-206. <https://doi.org/10.5489/cuaj.4172>
 18. Paner GP, Brown JG, Lapetino S, Nese N, Gupta R, Shen SS, Hansel DE, Amin MB. Diagnostic use of antibody to smoothelin in the recognition of muscularis propria in transurethral resection of urinary bladder tumour (TURBT) specimens. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(6):792-799. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181da7650>
 19. Venkatramani V, Panda A, Manojkumar R, Kekre NS. Monopolar versus bipolar transurethral resection of bladder tumors: a single center, parallel arm, randomized, controlled trial. *J Urol*. 2014;191(6):1703-1707. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.12.004>
 20. Wang DS, Bird VG, Leonard VY, Plumb SJ, Konety B, Williams RD, Winfield HN. Use of bipolar energy for transurethral resection of bladder tumours: Pathologic considerations. *J Endourol*. 2004;18(6):578-582. <https://doi.org/10.1089/end.2004.18.578>
 21. Севергина Л.О., Сорокин Н.И., Дымов А.М., Цариченко Д.Г., Еникеев Д.В., Кисляков Д.А., Рапопорт Л.М., Коровин И.А., Королев Д.О. Лазерная резекция мышечно-неинвазивных опухолей мочевого пузыря единым блоком: клинико-морфологические параллели. *Онкоурология*. 2018;14(3):78-84. Severgina LO, Sorokin NI, Dymov AM, Tsarichenko DG, Enikeev DV, Kislyakov DA, Rapoport LM, Korovin IA, Korolev DO. laser en-bloc resection of non-muscle-invasive bladder cancer: clinical and morphological specificities. *Oncourologia*. 2018;14(3):78-84. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-3-78-84>
 22. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Тупикина Н.В., Цыбуля О.А., Рева И.А. Новое в стадировании уротелиальной карциномы мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2017;13(2):87-95. Kovylyina MV, Prilepskaya EA, Tupikina NV, Tsybulya OA, Reva IA. Grading of urothelial carcinoma of the bladder. *Oncourologia*. 2017;13(2):87-95. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2017-13-2-87-95>
 23. Sylvester RJ, Rodríguez O, Hernández V, Turturica D, Baucrová L, Bruins HM, Bründl J, van der Kwast TH, Brisuda A, Rubio-Briones J, Seles M, Hentschel AE, Kusuma VRM, Huebner N, Cotte J, Mertens LS, et al. European Association of Urology (EAU) Prognostic Factor Risk Groups for Non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) incorporating the WHO 2004/2016 and WHO 1973 classification systems for grade: An update from the EAU NMIBC guidelines panel. *Eur Urol*. 2021;79(4):480-488.
 24. Abd El-Latif A, Watts KE, Elson P, et al. The sensitivity of initial transurethral resection or biopsy of bladder tumor(s) for detecting bladder cancer variants on radical cystectomy. *J Urol*. 2013;189:1263-1267. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.10.054>
 25. Shah RB, Montgomery JS, Montie JE, Kunju LP. Variant (divergent) histologic differentiation in urothelial carcinoma is under-recognized in community practice: Impact of mandatory central pathology review at a large referral hospital. *Eur Urol Oncol*. 2013;31:1650-1655.
 26. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C, eds. *TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer*. 8th ed. Wiley-Blackwell; 2017.
 27. Gendy R, Delprado W, Brenner P, Brooks A, Coombes G, Cozzi P, Nash P, Patel MI. Repeat transurethral resection for non-muscle-invasive bladder cancer: a contemporary series. *BJU Int*. 2016;117(suppl 4):54-59. <https://doi.org/10.1111/bju.13265>
 28. Neuzillet Y, Methorst C, Schneider M, Leuret T, Rouanne M, Radulescu C, Molinier V, Dreyfus JF, Pelcat V, Botto H. Assessment of diagnostic gain with hexaminolevullinate (HAL) in the setting of newly diagnosed non-muscle-invasive bladder cancer with positive results on urine cytology. *Urol Oncol*. 2014;32(8):1135-1140. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2014.04.005>
 29. Фигурин К.М. Внутривезикальная БЖ-терапия при мышечно-неинвазивном раке мочевого пузыря. *Онкоурология*. 2012;8(1):14-22. Figurin KM. intravesical bcg therapy for non-muscle invasive bladder cancer. *Oncourologia*. 2012;8(1):14-22. (In Russ.).
 30. May M, Bastian PJ, Brookman-May S, Burger M, Bolenz C, Trojan L, Michel MS, Herrmann E, Wülfing C, Tiemann A, Müller SC, Ellinger J, Buchner A, Stief CG, Tilki D, Wieland WF, Gilfrich C, Höfner T, et al. Pathological upstaging detected in radical cystectomy procedures is associated with a significantly worse tumour-specific survival rate for patients with clinical T1 urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Scand J Urol Nephrol*. 2011;45(4):251-257. <https://doi.org/10.3109/00365599.2011.562235>
 31. Turker P, Bostrom PJ, Wroclawski ML, van Rhijn B, Kortekangas H, Kuk C, Mirtti T, Fleshner NE, Jewett MA, Finelli A, Kwast TV, Evans A, Sweet J, Laato M, Zlotta AR. Upstaging of urothelial cancer at the time of radical cystectomy: factors associated with upstaging and its effect on outcome. *BJU Int*. 2012;110(6):804-811. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2012.10939.x>
 32. Hurle R, Lazzeri M, Colombo P, Buffi N, Morengi E, Pescechiera R, Castaldo L, Pasini L, Casale P, Seveso M, Zandegiacomo S, et al. "En Bloc" Resection of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer: A Prospective Singlecenter Study. *Urology*. 2016;90:126-130. <https://doi.org/10.1016/j.urol.2016.01.004>
 33. Kramer MW, Rassweiler JJ, Klein J, Martov A, Baykov N, Lusuardi L, Janetschek G, Hurle R, Wolters M, Abbas M, et al. En bloc resection of urothelium carcinoma of the bladder (EBRUC): a European multicenter study to compare safety, efficacy, and outcome of laser and electrical en bloc transurethral resection of bladder tumor. *World J Urol*. 2015;33(12):1937-1943. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1568-6>
 34. Maruniak NA, Takezawa K, Murphy WM. Accurate pathological staging of urothelial neoplasms requires better cystoscopic sampling. *J Urol*. 2002;167(6):2404-2407.

35. Migliari R, Buffardi A, Ghabin H. Thulium Laser endoscopic En bloc enucleation of nonmuscle-invasive bladder cancer. *J Endourol.* 2015;29(11):1258-1262. <https://doi.org/10.1089/end.2015.0336>
36. Xin-Ru Zhang, Chao Feng, Wei-Dong Zhu, Jie-Min Si, Bao-Jun Gu, Hui Guo, Lu-Jie Song, Chao Li. Two micrometer continuous-wave thulium laser treating primary non-muscle-invasive bladder cancer: is it feasible? A randomized prospective study. *Photom Laser Surg.* 2015;33(10):517-523. <https://doi.org/10.1089/pho.2015.3913>
37. Eissa A, Zoeir A, Ciariello S, Sarchi L, Sighinolfi MC, Ghaith A, Pullatti S, Inzillo R, Reggiani Bonetti L, Rizzo M, Rocco B, Micali S. En-bloc resection of bladder tumors for pathological staging: the value of lateral margins analysis. *Minerva Urol Nephrol.* 2020;72(6):763-769. <https://doi.org/10.23736/S0393-2249.20.03551-1>
38. Hermann G, Horn T, Steven K. The influence of the level of lamina propria invasion and the prevalence of p53 nuclear accumulation on survival in stage T1 transitional cell bladder cancer. *J Urol.* 1998;159(1):91-94. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(01\)64021-7](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(01)64021-7)
39. Shariat S, Gontero P, Catto JWF. How to treat a patient with T1 High-grade disease and no tumour on repeat transurethral resection of the bladder? *Eur Urol Oncol.* 2021;4(4):663-669. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2019.07.006>
40. Compérat E, Egevad L, Lopez-Beltran A, Camparo P, Algaba F, Amin M, Epstein JI, Hamberg H, Hulsbergen-van de Kaa C, et al. An interobserver reproducibility study on invasiveness of bladder cancer using virtual microscopy and heatmaps. *Histopathology.* 2013;63(6):756-766. <https://doi.org/10.1111/his.12214>
41. Ульянов М.Ю., Баснашвили Г.Т., Хасанов Р.Ш., Гатауллин И.Г., Бурмистров М.В., Хайруллина Г.Р. Роль собственной мышечной пластинки слизистой оболочки в прогнозе рецидивирования и прогрессирования при поверхностном раке мочевого пузыря. *Онкоурология.* 2015;11(4):42-50. Ulyanin MM, Basiashvili GT, Khasanov RS, Gataullin IG, Burmistrov MV, Khayrullina GR. Significance of muscularis mucosae on the risk of recurrence and progression in patients with superficial bladder cancer. *Oncourologia.* 2015;11(4):42-50. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2015-11-4-42-50>
42. Compérat EM, Burger M, Gontero P, Mostafid AH, Palou J, Rouprêt M, van Rhijn BWG, Shariat SF, Sylvester RJ, Zigeuner R, Babjuk M. Grading of urothelial carcinoma and the new «World Health Organisation classification of tumours of the urinary system and male genital organs 2016». *Eur Urol Focus.* 2019;5(3):457-466. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.01.003>
43. Substaging T1 disease (Recommended). <https://www.iccr-cancer.org/datasets/docs/iccr-utbiopsy-substaging>
44. Orsola A, Werner L, de Torres I, Martin-Doyle W, Raventos CX, Lozano F, Mullane SA, Leow JJ, Barjetta JA, Bellmunt J, Morote J. (2015). Reexamining treatment of high-grade T1 bladder cancer according to depth of lamina propria invasion: a prospective trial of 200 patients. *Br J Cancer.* 2015;112(3):468-474.
45. Kardoust Parizi M, Enikeev D, Glybochko PV, Seebacher V, Janisch F, Fajkovic H, Chłosta PL, Shariat SF. Prognostic value of T1 substaging on oncological outcomes in patients with non-muscle-invasive bladder urothelial carcinoma: a systematic literature review and meta-analysis. *World J Urol.* 2020;38(6):1437-1449. <https://doi.org/10.1007/s00345-019-02936-y>
46. Herrmann TR, Wolters M, Kramer MW. Transurethral en bloc resection of nonmuscle invasive bladder cancer: trend or hype. *Curr Opin Urol.* 2017;27:182-190. <https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000377>

Поступила 18.01.2022

Received 18.01.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Саркомы центральной нервной системы. Клинические наблюдения

© М.В. РЫЖОВА, С.А. ГАЛСТЯН, Е.Н. ТЕЛЫШЕВА, Е.Г. ШАЙХАЕВ, Г.П. СНИГИРЕВА, С.К. ГОРЕЛЫШЕВ, Ш.У. КАДЫРОВ, В.Н. ШИМАНСКИЙ, С.В. ШУГАЙ, Т.Н. ПАНИНА

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Представлены 3 случая редких сарком ЦНС: две CIC-саркомы и одна *DICER1*-саркома. Опухоли были исследованы с помощью метода анализа структуры метилирования ДНК. Важно помнить, что первичные саркомы могут возникать в ЦНС и включать в перечень дифференциальной диагностики злокачественных опухолей исследования слияний CIC и мутации *DICER1*.

Ключевые слова: метилирование ДНК, опухоли ЦНС, саркомы ЦНС.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рыжова М.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7206-6365>
Галстян С.А. — <https://orcid.org/0000-0001-9953-6654>
Телышева Е.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-0370-8667>
Шайхаев Е.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-7882-2579>
Снигирева Г.П. — <https://orcid.org/0000-0002-2584-802X>
Горелышев С.К. — <https://orcid.org/0000-0003-0984-2039>
Кадыров Ш.У. — <https://orcid.org/0000-0001-5879-1333>
Шиманский В.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-3816-847X>
Шугай С.В. — <https://orcid.org/0000-0001-8079-8523>
Панина Т.Н. — <https://orcid.org/0000-0001-6156-0085>
Автор, ответственный за переписку: Рыжова М.В. — e-mail: mrizhova@nsi.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Рыжова М.В., Галстян С.А., Телышева Е.Н., Шайхаев Е.Г., Снигирева Г.П., Горелышев С.К., Кадыров Ш.У., Шиманский В.Н., Шугай С.В., Панина Т.Н. Саркомы центральной нервной системы. Клинические наблюдения. *Архив патологии*. 2022;84(3):40–47. <https://doi.org/10.17116/patol20228403140>

Sarcomas of the central nervous systems. Clinical observations

© M.V. RYZHOVA, S.A. GALSTYAN, E.N. TELYSHEVA, E.G. SHAIKHAEV, G.P. SNIGIREVA, S.K. GORELYSHEV, SH.U. KADYROV, V.N. SHIMANSKIY, S.V. SHUGAY, T.N. PANINA

Burdenko Neurosurgical Center, Moscow, Russia

ABSTRACT

Here we report three patients with rare primary intracranial sarcomas, two of them were CIC-sarcomas and one was a *DICER1*-sarcoma. Tumors were examined using DNA methylation. It is important to study of CIC fusions and *DICER1* mutations in malignant brain tumors.

Keywords: DNA methylation, brain tumours, CNS sarcomas.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Ryzhova M.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7206-6365>
Galstyan S.A. — <https://orcid.org/0000-0001-9953-6654>
Telysheva E.N. — <https://orcid.org/0000-0002-0370-8667>
Shaikhaev E.G. — <https://orcid.org/0000-0002-7882-2579>
Snigireva G.P. — <https://orcid.org/0000-0002-2584-802X>
Gorelyshev S.K. — <https://orcid.org/0000-0003-0984-2039>
Kadyrov Sh.U. — <https://orcid.org/0000-0001-5879-1333>
Shimanskiy V.N. — <https://orcid.org/0000-0002-3816-847X>
Shugay S.V. — <https://orcid.org/0000-0001-8079-8523>
Panina T.N. — <https://orcid.org/0000-0001-6156-0085>
Corresponding author: Ryzhova M.V. — e-mail: mrizhova@nsi.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Ryzhova MV, Galstyan SA, Telysheva EN, Shaikhaev EG, Snigireva GP, Gorelyshev SK, Kadyrov ShU, Shimanskiy VN, Shugay SV, Panina TN. Sarcomas of the central nervous system. Clinical observations. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):40–47. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403140>

Впервые в Классификации ВОЗ опухолей ЦНС (5-е изд., 2021 г.) в разделе мезенхимальные неменингео-телиальные опухоли как опухоли неопределенной дифференцировки выделены: интракраниальная мезенхимальная опухоль со слиянием FET::CREB, CIC-саркома и первичная интракраниальная саркома с мутацией *DICER1*. В 2021 г. после внедрения в рутинную практику нового метода исследования метилирования ДНК в нашем центре удалось диагностировать 2 случая CIC-саркомы и 1 первичной интракраниальной саркомы; с интракраниальной мезенхимальной опухолью со слиянием FET::CREB в нашей практике мы пока не сталкивались.

Удивительно, но BCOR-саркома, включенная в Классификацию ВОЗ опухолей мягких тканей и детских опухолей совместно с CIC-саркомой в раздел опухолей неопределенной дифференцировки, в Классификации ВОЗ опухолей ЦНС отнесена в раздел эмбриональных опухолей [1–3].

Клиническое наблюдение №1. (CIC-саркома)

Девочка 15 лет заболела остро в октябре 2021 г., жалобы на резкую головную боль, тошноту и рвоту, быстро стала вялой и сонливой. По месту жительства при компьютерной томографии выявлено кровоизлияние объемом 40 см³ в левой теменно-затылочной области. Ребенок

оперирован по экстренным показаниям, удалена гематома и частично — обнаруженное на операции объемное образование. Гистологически диагностирована глиобластома. Через 1 мес после операции вновь возникла идентичная клиническая ситуация: резко ухудшилось состояние, повторно произведено удаление гематомы и частичное удаление опухоли. Еще через 1 мес при МРТ головного мозга с контрастным усилением выявляется больших размеров опухоль левой теменно-затылочной области с перифокальным отеком. Девочка госпитализирована в НМИЦ нейрохирургии, удалена растущая из фалькса серая мягкая опухоль с обширными некрозами и кровоизлияниями.

Гистологические препараты от произведенных по месту жительства операций не удалось получить.

При гистологическом исследовании материала, удаленного в нашем центре, определяется злокачественная опухоль со следами кровоизлияний различной давности и обширными некрозами. Опухоль представлена двумя компонентами: монотипными мелкими клетками со скудной светлой цитоплазмой и гиперхромным ядром и крупными клетками со светлой или эозинофильной цитоплазмой, крупным светлым ядром с базофильным ядрышком, формирующими солидные поля. Отмечаются многочисленные фигуры митозов, опухолевые клетки имеют тенденцию к периваскулярному расположению (рис. 1).

Проведен анализ метилирования ДНК с использованием набора Illumina Infinium Methylation EPIC BeadChip kit

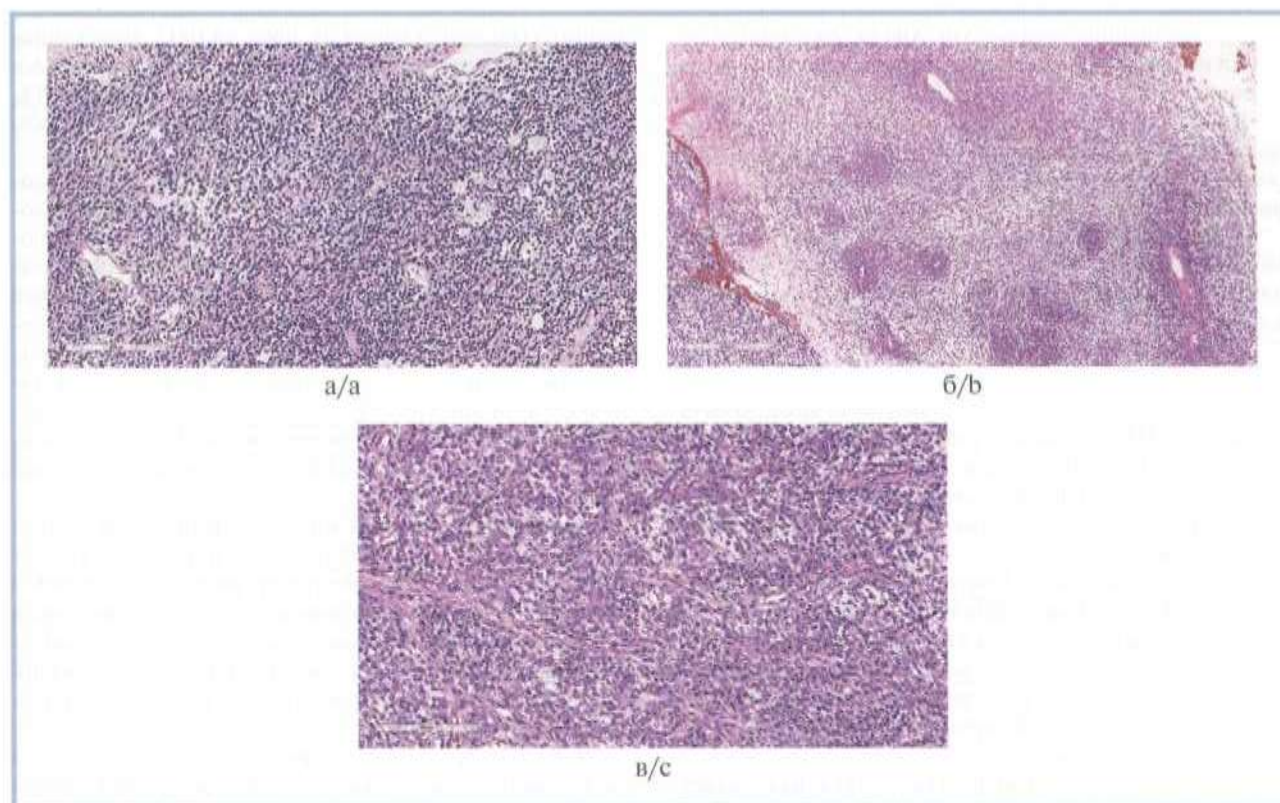


Рис. 1. Клиническое наблюдение №1. Гистологическое исследование опухоли.

а — мелкоклеточный компонент опухоли, требующий дифференциального диагноза с астроцитарной глиомой; б — построение опухолевыми клетками периваскулярных структур; в — крупноклеточный компонент опухоли, местами имеющий альвеолярное строение. Окраска гематоксилином и эозином, а, б — $\times 100$, в — $\times 200$.

Fig. 1. Clinical observation No. 1. Histological examination of the tumor.

а — small cell component of the tumor, requiring a differential diagnosis with astrocytic glioma; б — formation of perivascular structures by tumor cells; в — large cell component of the tumor, in some areas having an alveolar structure. H&E, а, б — $\times 100$, в — $\times 200$.

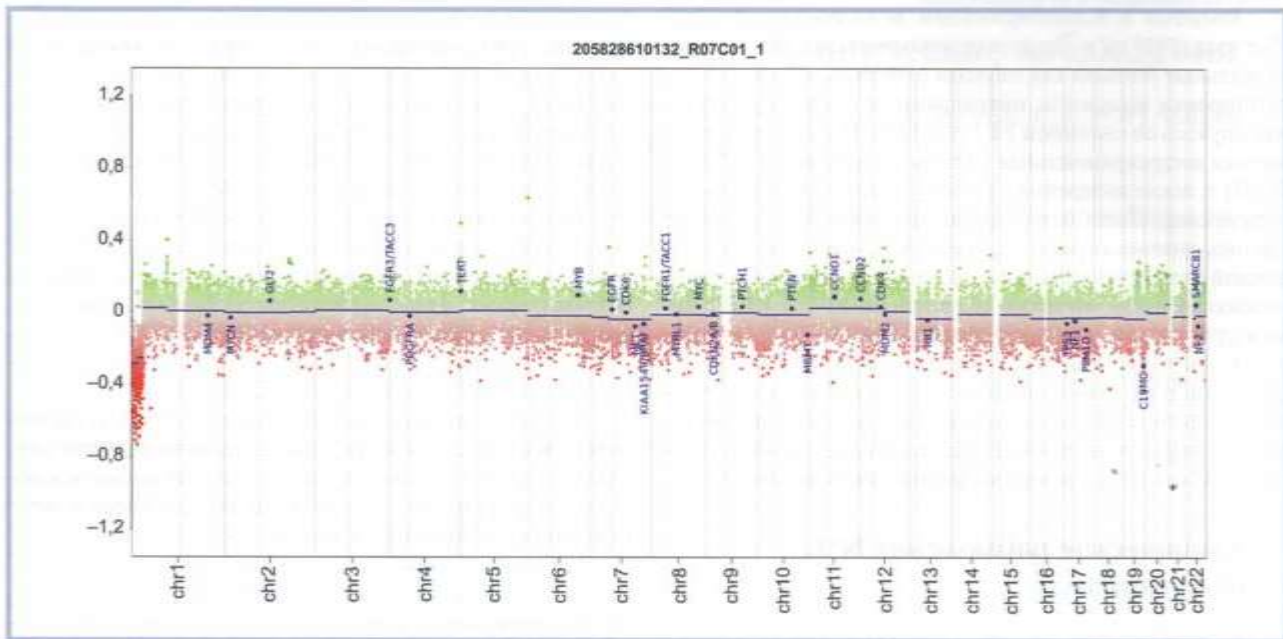


Рис. 2. Клиническое наблюдение №1. Молекулярное исследование опухоли методом оценки метилирования ДНК.

На горизонтальной оси абсцисс обозначены количественные изменения хромосом от 1 до 22. Красным цветом отмечена делеция 1p.

Fig. 2. Clinical observation No. 1. Molecular study of a tumor by assessing DNA methylation.

The horizontal abscissa shows quantitative changes on chromosomes from 1 to 22. The 1p loss is marked in red.

на приборе Illumina NextSeq 550. Анализ результатов выполнен на платформе molecularneuropathology.org с использованием Version 12.5 of the brain classifier и Sarcoma classifier.

Выявлены метилиционный класс CIC-саркомы с коэффициентом соответствия 0.99; делеция в коротком плече первой хромосомы и неметилированный *MGMT* (рис. 2).

С февраля 2022 г. девочка наблюдается у онкологов.

Клиническое наблюдение №2. (CIC-саркома)

Изменение диагноза после проведения анализа метилирования ДНК в данном случае явилось для нас полной неожиданностью. Мы планировали использовать данную опухоль как позитивный контроль анапластической эпендимомы и были уверены в диагнозе с момента его постановки в 2016 г.

Мальчик поступил в Центр нейрохирургии в 2016 г. в возрасте 1 года 11 мес. Заболевание манифестировало с пароксизмального приступа в виде замирания, приступы повторялись, нарастали по частоте. Проведена МРТ головного мозга, при которой выявлена опухоль левой затылочной области. Мальчик оперирован, опухоль тотально удалена до внешне интактной мозговой ткани. На операции установлено, что опухоль инфильтративно поражала твердую мозговую оболочку. Гистологически диагностирована анапластическая эпендимома с периваскулярными псевдорозетками, микроваскулярной пролиферацией, отложением кальцификатов, местами опухоль имела альвеолярное строение. В настоящий момент при подобной гистологической картине дифференциальный диагноз принято проводить между анапластической эпендимомой и нейробластомой (рис. 3, а, б). При иммуногистохимическом исследовании

выявлены ядерная экспрессия INI1, выраженная позитивная экспрессия GFAP, точечная экспрессия EMA и индекс мечения пролиферативного маркера Ki-67 до 20%. Иммуногистохимическое исследование четко указывало на анапластическую эпендимома.

Проведена лучевая терапия в суммарной очаговой дозе 54 Гр. Проводился контроль заболевания с использованием МРТ всех отделов ЦНС. Данных, подтверждающих локальный рецидив или дистантное метастазирование, не выявлено. Однако через 16 мес на МРТ головного мозга выявлен локальный рецидив и мальчик был оперирован повторно. Гистологически опухоль изменилась: появились мелкие округлые голоядерные клетки, местами формирующие протоковые структуры, клетки с округлыми ядрами и светлой цитоплазмой. Таким образом, был установлен не распознанный вовремя саркоматозный компонент (рис. 3, в, г).

Следующий очередной локальный рецидив произошел через 6 мес, ребенок был оперирован, гистологически опухоль демонстрировала особенности типичной анапластической эпендимомы — периваскулярные псевдорозетки и истинные розетки. Однако также имелись и нейробластические розетки, клетки с округлыми ядрами и светлой цитоплазмой, а также тонкие извитые непролиферирующие сосуды.

Через 6 мес пациент был снова оперирован по поводу уже третьего по счету локального рецидива, при гистологическом исследовании среди мозговой и фиброзной ткани определялась злокачественная полиморфно-клеточная опухоль.

Из замороженной опухолевой ткани, полученной во время первой операции, извлечена ДНК, проведен анализ метилирования ДНК. Выявлен метилиционный класс CIC-саркомы с коэффициентом соответствия 0.99; в опухоли имеются делеция в коротком плече первой хромосомы,

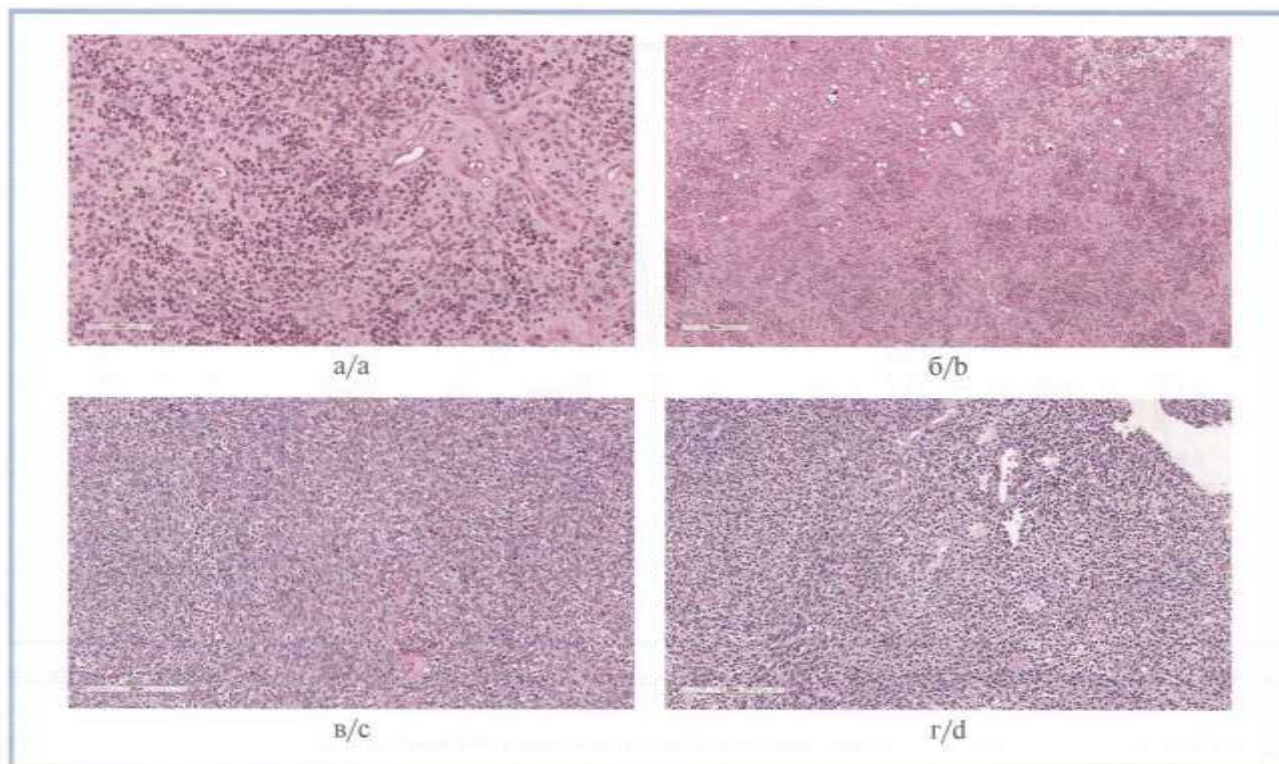


Рис. 3. Клиническое наблюдение №2. Гистологическое исследование опухоли.

а — типичная картина анапластической эпендимомы; б — гистологическая картина, требующая дифференциального диагноза между анапластической эпендимомой и нейробластомой; в — появление саркоматозного компонента в локальном рецидиве; г — появление саркоматозного/мелкоклеточного компонента в локальном рецидиве. Окраска гематоксилином и эозином, а — $\times 200$, б—г — $\times 100$.

Fig. 3. Clinical observation No. 2. Histological examination of the tumor.

a — a typical picture of anaplastic ependymoma; b — histological picture requiring a differential diagnosis between anaplastic ependymoma and neuroblastoma; c — the appearance of a sarcomatous component in a local recurrence; d — the appearance of a sarcomatous/small cell component in a local recurrence. H&E, a — $\times 200$, b—d — $\times 100$.

дополнительный материал в хромосоме 8 и неметилированный *MGMT* (рис. 4).

Мальчик умер через 2,5 года после первой операции.

Клиническое наблюдение №3.

(Первичная интракраниальная саркома с мутацией *DICER1*)

Молодая женщина 23 лет в течение месяца жаловалась на прогрессирующее развитие головокружений, тошноты, головной боли и двоения в глазах. По данным МРТ с контрастным усилением у пациентки диагностирована опухоль правой ножки мозжечка, неравномерно накапливающая контрастное вещество, достигающая намета мозжечка. На операции выявлено, что опухоль располагается в оральных отделах мостомозжечкового угла, имеет бугристую поверхность, мягкую консистенцию, серую окраску, смешанный характер роста — экзофитно распространяется из боковой поверхности ствола и инфильтративно проникает в толщу мозговой ткани ствола.

Гистологическое исследование выявило гетерогенную опухоль с выраженным клеточным и ядерным полиморфизмом. Ядра клеток крупные, светлые, с четкими ядрышками. Обнаруживаются многочисленные патологические фигуры митозов. Клеточный состав представлен веретенноклеточным, светлоклеточным и эпителиоидным компонентами.

Наблюдаются многочисленные фокусы псевдопалисадных некрозов, а также участки с незначительным гиалинозом стромы. Проводился дифференциальный диагноз между злокачественной глиомой, медуллобластомой, злокачественной опухолью оболочек периферического нерва, метастазом меланомы (рис. 5).

Иммуногистохимическое исследование выявило положительную экспрессию виментина; убедительных данных, подтверждающих экспрессию GFAP, синаптофизина, S-100 и SOX10 в опухолевых клетках, не выявлено.

Проведено прямое секвенирование по Сэнгеру на приборе 3500 Genetic Analyzer Applied Biosystem, полученные результаты оценены с помощью программы Sequencing Analysis Software 6 для визуализации электрофореграммы и программы MegAlign для выравнивания исследуемого фрагмента на референсный геном.

В результате исследования мутаций генов *H3F3A* (K27 и G34), *CTNNB1* (T41X, S33X), *SMO* (L412F, W535L, D473H) и *DDX3X* (R534X) не выявлено.

Проведена флюоресцентная гибридизация *in situ* на приборе Hybridizer DAKO. Полученные результаты оценены под флюоресцентным микроскопом Axio Imager A2 с помощью программы Isis. В результате исследования амплификаций генов *MYC*, *MYCN* и изохромосомы i17q не выявлено.

Выполнено высокопроизводительное секвенирование (NGS) со следующей панелью для выявления

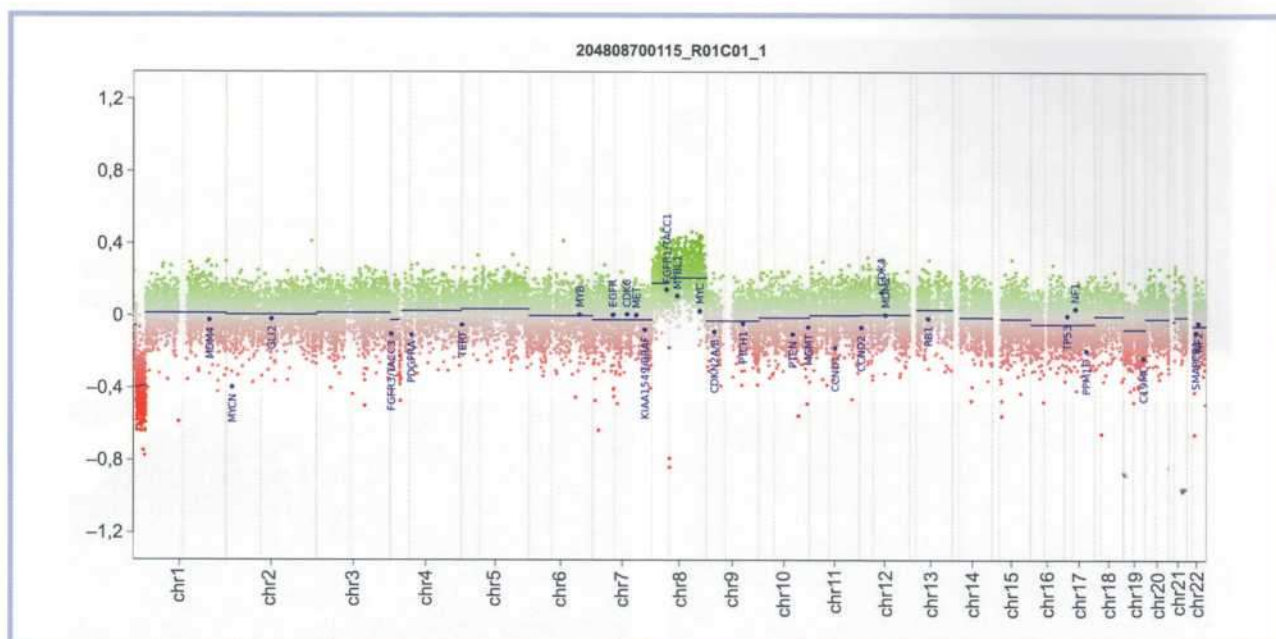


Рис. 4. Клиническое наблюдение №2. Молекулярное исследование опухоли методом оценки метилирования ДНК. Красным цветом обозначена делеция 1p, зеленым цветом — дополнительный материал хромосомы 8.

Fig. 4. Clinical observation No. 2. Molecular study of a tumor by assessing DNA methylation.

The red color indicates the loss at the 1p, the green color indicates the gain of chromosome 8.

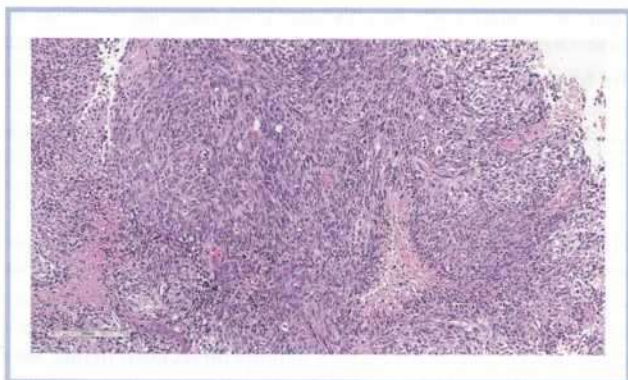


Рис. 5. Клиническое наблюдение №3. Гистологическое исследование опухоли.

Злокачественная полиморфноклеточная веретенноклеточная опухоль с псевдопалисадными некрозами. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

Fig. 5. Clinical observation No. 3. Histological examination of the tumor.

Malignant polymorphocellular spindle cell tumor with pseudopalisade necrosis. H&E, $\times 200$.

ния мутаций генов (*ACVR1*, *AKT1*, *APC*, *ATRX*, *BCOR*, *BCORL1*, *BRAF*, *CDK6*, *SUFU*, *TERT*, *TP53*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *CIC*, *CTNNB1*, *DDX3X*, *EGFR*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FUBP1*, *GNAQ*, *H3F3A*, *HIST1H3B*, *HIST1H3C*, *IDH1*, *IDH2*, *KDM6A*, *KLF4*, *KRAS*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MYB*, *MYBL1*, *MYC*, *MYCN*, *NF1*, *NF2*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *PTCH1*, *PTCH2*, *PTEN*, *PTPN11*, *RAF1*, *RBI*, *SETD2*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMO*, *SUFU*, *TERT*, *TP53*) и со следующей панелью для выявления слияний

генов (*KIAA1549::BRAF*, *AFAP1::NTRK2*, *AGBL4::NTRK2*, *ATG7::RAF1*, *BCAN::NTRK1*, *BTBD1::NTRK3*, *c1orf95::REL*, *C8orf34::MYBL1*, *CLIP2::MET*, *ETV6::NTRK3*, *EWSR1::PATZ*, *FGFR1::TACC1*, *FGFR3::TACC3*, *FYCO1::RAF1*, *JPX::FOXOR2*, *LOC550643::FOXOR2*, *MN1::BEND2*, *MN1::CXCC5*, *MYB::ESR1*, *MYBL1::MMP16*, *MYB::PCDHGA1*, *MYB::QKI*, *NAB2::STAT6*, *NACC2::NTRK2*, *NAV1::NTRK2*, *NFASC::NTRK1*, *PTPRZ1::MET*, *QKI::NTRK2*, *QKI::RAF1*, *SRGAP3::RAF1*, *SRGAP3::RAF1*, *TFG::MET*, *TPM3::NTRK1*, *VCL::NTRK2*, *YAPI::MAMLD1*, *BCOR* (internal tandem duplication))).

Установлены мутации генов *TP53* (с.818G>A (p.R273H)) и *NF2* (с.716dupT (p.239L/LX) со сдвигом рамки считывания). Амплификаций и слияний генов нет.

Проведено исследование метилирования ДНК с анализом результатов на платформе molecularneuropathology.org с использованием Version v11b4.

Однако установить метилирующий класс опухоли не удалось, выявлен несбалансированный генотип со множественными добавками и делециями хромосом, в том числе делеция в локусе 14q32, где локализуется ген *DICER1*. Промотор гена *MGMT* не метилирован (рис. 6).

После получения результатов исследований и длительных обсуждений нейроморфологов и биологов принято решение поставить диагноз злокачественной глиомы, наиболее вероятно глиобластомы, WHO Grade IV, H3K27M-дикий тип с мутациями генов *TP53* (с.818G>A (p.R273H)) и *NF2* (с.716dupT (p.239L/LX) со сдвигом рамки считывания).

Спустя полгода после очередного обновления метили-
ционного классификатора до версии 12.5, обезличенные
IDAT-файлы, полученные при исследовании на прибо-
ре Illumina NextSeq 550, были снова анализированы, уста-
новлен метилиционный класс первичной интракраниаль-
ной саркомы с мутацией *DICER1* и коэффициентом соот-
ветствия 0.95.

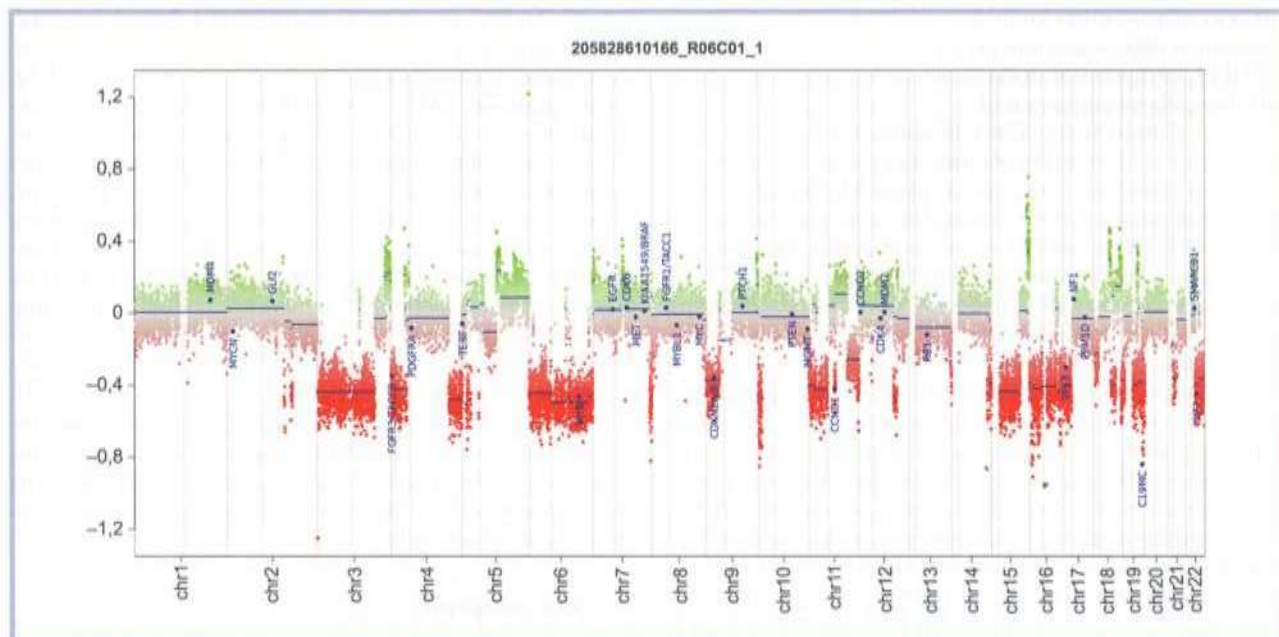


Рис. 6. Клиническое наблюдение №3. Молекулярное исследование опухоли методом оценки метилирования ДНК. Зеленым цветом обозначены добавки хромосом, красным цветом — делеции хромосом.

Fig. 6. Clinical observation No. 3. Molecular study of a tumor by assessing DNA methylation.

Chromosome gains are marked in green, chromosome losses are marked in red.

Пациентка умерла спустя 4 мес от начала проявления заболевания и 3 мес после удаления опухоли. Окончательно диагноз был верифицирован лишь через 6 мес после смерти пациентки.

Обсуждение

В настоящий момент мы становимся свидетелями того, как определение молекулярных характеристик опухолей различных органов и тканей прочно входят в рутинную практику патологов. Все чаще сталкиваемся с названиями опухолей, производными от ключевой иммуногистохимической особенности, генетической поломки, повторяющейся мутации или патогномичного слияния: CD-34 фибробластическая опухоль, нейробластома с активацией FOX, десмопластическая миксоидная опухоль с мутацией *SMARCB1*, *PATZ1*-саркома и др. Благодаря молекулярным исследованиям наш кругозор расширяется, и первичное развитие мягкотканной CIC-саркомы в ЦНС уже не кажется невероятным. Для успешной диагностики подобных опухолей прежде всего нужно помнить, что первичные саркомы могут встречаться в ЦНС, и при возможности использовать современные молекулярные методики для диагностики и исследования.

В последние два года (2020—2022 гг.) впервые в 5-е издание Классификации ВОЗ опухолей ЦНС, в 5-е издание Классификации ВОЗ опухолей мягких тканей и в 1-е издание Классификации ВОЗ детских опухолей как самостоятельная нозологическая единица в раздел опухолей неясной дифференцировки была включена CIC-саркома (все классификации ВОЗ доступны по ссылке <https://tumourclassification.iarc.who.int>) [1—7].

CIC-саркома — злокачественная недифференцированная преимущественно мелкокруглоклеточная опухоль, развивающаяся у детей и взрослых, однако также

может встречаться и в пожилом возрасте. Ранее из-за своего морфологического сходства с саркомой Юинга CIC-саркому относили к Юингоподобным саркомам или опухолям семейства саркомы Юинга. CIC-саркома показывала не только морфологическое сходство с саркомой Юинга, но и сходный иммунофенотип: позитивная экспрессия CD99 и FLI1, но в отличие от саркомы Юинга CIC-саркома была иммунонегативна для NKX2-2 и не имела слияния *EWSR1* с различными партнерами. Выявление характерного слияния CIC со следующими партнерами: *DUX4*, *FOXO4*, *LEUTX*, *NUTM1* и *NUTM2A*, а также позитивная иммуногистохимическая экспрессия *ETV4*, *WT1* и *NUT* позволили окончательно выделить CIC-саркому в самостоятельную нозологическую единицу. Для диагностики CIC-саркомы исследователи рекомендуют начинать с высокомолекулярных методов, например NanoString, или высокопроизводительного секвенирования; при отсутствии РНК-секвенирования можно использовать флуоресцентную гибридизацию *in situ*, а также применять иммуногистохимическое исследование для оценки ядерной экспрессии *DUX4* [8, 9]. Мы, в свою очередь, при возможности рекомендуем после гистологической оценки с выявлением мелкоклеточной опухоли с округлыми ядрами и светлой цитоплазмой изучать метилирование ДНК, которое позволяет определять метилиционный класс опухоли, количественные изменения на хромосомах и статус метилирования гена *MGMT* (неметилированный во всех трех случаях описываемых сарком). Разумеется, по двум случаям делать выводы преждевременно, но в обоих наших наблюдениях CIC-сарком имелась делеция на локусе 1p; возможно, это является характерной особенностью данной опухоли и определение делеции 1p могло бы помочь в диагностике CIC-сарком.

Наиболее частыми транслокациями при CIC-саркоме становятся *t(4;19)(q35;q13)* и *t(10;19)(q26;q13)*, однако

никаких выраженных количественных изменений, за исключением небольших потерь, на длинном плече хромосом 4, 10 и 19, которые могли бы косвенно указывать на транслокацию, мы не обнаружили.

Аналогично тому, как CIC-саркома при накоплении новых знаний об особенностях опухоли, была выделена из опухолей семейства сарком Юинга, обособлена и первичная интракраниальная саркома с мутацией *DICER1* (*DICER1*-саркома), вначале отнесенная к саркомам с мышечной дифференцировкой. И только в 2018 г. благодаря использованию в качестве метода исследования анализа метилирования ДНК она была признана самостоятельной нозологической единицей [10]. Мутация *DICER1* характерна не только для первичной интракраниальной саркомы, но и для множества других опухолей ЦНС (пинеобластома, эмбриональная опухоль с многорядными розетками, бластома гипофиза, медуллоэпителиома глаза), а также опухолей легких (бластома легких), почек, щитовидной железы, яичников, шейки матки. Мутация *DICER1* может возникать как в спорадических опухолях, так и при наследственном *DICER1*-синдроме [1, 11, 12]. Наиболее частым проявлением *DICER1*-синдрома является метастазирование плевропульмональной бластомы в головной мозг. Так, P. Roy и соавт. [13] отмечают фенотипическое сходство морфологической картины *DICER1*-сарком различной локализации с плевропульмональной бластомой.

Имея достаточно узкую специализацию в области нейроморфологии, впервые столкнувшись с первичной интракраниальной *DICER1*-саркомой и зная о возможном метастазировании *DICER1*-мутантной плевропульмональной бластомы в головной мозг, мы обратились к Классификации ВОЗ опухолей грудной полости [14] и обнаружили у нашей пациентки гистологическое сходство *DICER1*-саркомы с плевропульмональной бластомой. Однако при компьютерной томографии органов грудной клетки, сделанной в период пандемии COVID-19 перед госпитализацией в наш центр, у пациентки было исключено новообразование легких.

Анализируя гистологическую картину опухоли, мы, в отличие от J. Lee и соавт. [15], не нашли эозинофильных гранул. При мутационном анализе были выявлены мутации генов *TP53* и *NF2*, в то время как C. Koelsche и J. Lee описали мутацию гена *NF1* [10, 15], что указывает на разнообразие редчайшей первичной интракраниальной *DICER1*-саркомы.

К сожалению, не удалось получить кровь пациентки и мы не смогли оценить возможный наследственный характер мутации *DICER1*.

Как же заподозрить и диагностировать первичную интракраниальную *DICER1*-саркому?

Подобная злокачественная опухоль может развиваться в любом возрасте, она затрагивает оболочки мозга, макроскопически относительно ограничена, плотная, со следами кровоизлияний, характеризуется наличием соматической или наследственной мутации гена *DICER1*. Гистологически выглядит как злокачественная плеоморфная или веретенноклеточная опухоль, возможна мышечная или хрящевая дифференцировка, наличие эозинофильных гранул и миксоидной стромы, кровоизлияний и некрозов. Иммуногистохимически может быть позитивна на коллаген IV типа, строма опухоли богата ретикулином, а эозинофильные гранулы могут окраши-

ваться при PAS-реакции. Возможна позитивная экспрессия десмина, гладкомышечного актина, виментина, а также ядерная экспрессия TLE1. Экспрессия GFAP, OLIG2, цитокератинов, EMA, S100, SOX10 и SOX2 быть не должно. Дифференциальный диагноз следует обязательно проводить с плевропульмональной бластомой (на основании клинических данных), а также с анапластической менингиомой, солитарной фиброзной опухолью, глиосаркомой и другими типами сарком (рабдомиосаркомой, фибросаркомой и синовиальной саркомой). В опухоли не должно быть следующих слияний и мутаций: слияния солитарной фиброзной опухоли *NAB2::STAT6*, альвеолярной рабдомиосаркомы *PAX3::FOXO1* и/или *PAX7::FOXO1* и мутаций менингиом (*NF2*, *TRAF7*, *KLF4*, *SMO*, *AKT1*, *SMARCB1*) [1]. Однако в нашем случае при диагностировании первичной интракраниальной *DICER1*-саркомы с использованием анализа метилирования ДНК как раз и была выявлена мутация гена *NF2*, что демонстрирует, как мы еще мало знаем об этой опухоли.

Заключение

Таким образом, с появлением 5-го издания Классификации ВОЗ опухолей ЦНС, сложившееся мнение об опухолях ЦНС как о закрытой отдельной группе опухолей постепенно меняется, мы сталкиваемся с ситуацией «глобализации» опухолей, молекулярные исследования четко демонстрируют, что первичные саркомы не имеют однозначную локализацию и должны быть правильно диагностированы как в мягких тканях, так и в ЦНС. Наиболее многообещающим, простым в применении, но, к сожалению, дорогостоящим методом диагностики и исследования сарком на сегодняшний день является анализ метилирования ДНК [16]. Однако у этого метода есть существенное ограничение: метилиционный классификатор разработан только для опухолей ЦНС и сарком любой локализации. Изучив метилиционный профиль опухоли, мы возвращаемся к гистологической оценке, постепенно обучаясь оценивать клетки с округлыми ядрами и светлой цитоплазмой не только как возможную глиальную опухоль, но и как саркоматозный компонент, понимая, что опухоли с подобной гистологической картиной не так уж и редки, и вопрос выбора протокола лечения и ожидаемого ответа опухоли очень важен. Попутно следует ориентироваться и на клинические особенности, такие как отграниченность опухоли от прилегающей мозговой ткани, ее экспансивный экзофитный характер роста и связь с твердой мозговой оболочкой, что также может помочь заподозрить саркому. Текущее положение вещей, безусловно, заставляет искать новые методы диагностики и исследования опухолей, применять новые антитела и FISH-пробы, подбирать праймеры для оценки новых и новых мутаций и слияний генов, а также все шире использовать РНК-секвенирование и анализ метилирования ДНК в изучении метилиционного класса опухолей ЦНС и сарком.

Авторы сердечно благодарят Благотворительные фонды Константина Хабенского и «Подари Жизнь» за помощь в финансировании исследований по метилированию ДНК.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours. Lyon: IARC; 2021. (WHO classification of tumours series. 5th ed.; vol. 6). <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. Lyon: IARC; 2020. (WHO classification of tumours series. 5th ed.; vol. 5). <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Paediatric tumours. Lyon: IARC; 2021. (WHO classification of tumours series. 5th ed.; vol. 5). <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>
- Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, von Deimling A, Ellison DW. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol*. 2021;23(8):1231-1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>
- Kallen ME, Hornick JL. The 2020 WHO Classification what's new in soft tissue tumor pathology? *Am J Surg Pathol*. 2021;45(1):1-23. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001552>
- Sbaraglia M, Bellan E, Dei Tos AP. The 2020 WHO Classification of Soft Tissue Tumours: news and perspectives. *Pathologica*. 2021;113:70-84. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-213>
- Pfister SM, Reyes-Múgica M, Chan JKC, Hasle H, Lazar AJ, Rossi S, Ferrari A, Jarzembowski JA, Pritchard-Jones K, Hill DA, et al. A summary of the Inaugural WHO Classification of Pediatric Tumors: Transitioning from the optical into the molecular era. *Cancer Discov*. 2022;12(2):331-355. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1094>
- Miettinen M, Felisiak-Golabek A, Contreras AL, Glod J, Kaplan RN, Killian JK, Lasota J. New fusion sarcomas: histopathology and clinical significance of selected entities *Hum Pathol*. 2019;86:57-65. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.12.006>
- Łastowska M, Trubicka J, Sobocińska A, Wojtas B, Niemira M, Szałkowska A, Krętowski A, Karkucińska-Więckowska A, Kaleta M, Ejmont M, et al. Molecular identification of CNS NB-FOX2, CNS EFT-CIC, CNS HGNET-MN1 and CNS HGNET-BCOR pediatric brain tumors using tumor-specific signature genes. *Acta Neuropathol Commun*. 2020;8(1):105. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00984-9>
- Koelsche C, Mynarek M, Schrimpf D, Bertero L, Serrano J, Sahm F, Reuss DE, Hou Y, Baumhoer D, Vokuhl C, et al. Primary intracranial spindle cell sarcoma with rhabdomyosarcomalike features share a highly distinct methylation profile and DICER1 mutations. *Acta Neuropathol*. 2018;136(2):327-337. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1871-6>
- Schultz KAP, Stewart DR, Kamihara J, et al. DICER1 tumor predisposition. 2014 Apr 24 [Updated 2020 Apr 30]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al, eds. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>
- Warren M, Hiemenz MC, Schmidt R, Shows J, Cotter J, Toll S, Parham DM, Biegel JA, Mascarenhas L, Shah R. Expanding the spectrum of dicer1-associated sarcomas. *Mod Pathol*. 2020;33(1):164-174. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0366-x>
- Roy P, Das A, Singh A, Panda Y, Bhattacharya A, Gehani A, Parihar M, Reghu KS, Achari R, Alaggio R, Field A, Hill DA, Dehner LP, Schultz KAP. Phenotypic similarities within the morphologic spectrum of DICER1-associated sarcomas and pleuropulmonary blastoma: Histopathologic features guide diagnosis in the LMIC setting. *Pediatr Blood Cancer*. 2022;69:e29466. <https://doi.org/10.1002/pbc.29466>
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours. Lyon: IARC; 2021. (WHO classification of tumours series. 5th ed.; vol. 5). <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/35>
- Lee JC, Villanueva-Meyer JE, Ferris SP, Sloan EA, Hofmann JW, Hattab EM, Williams BJ, Guo H, Torkildson J, Florez A, Van Ziffler J, Onodera C, Grenert JP, Cho S-J, Horvai AE, et al. Primary intracranial sarcomas with DICER1 mutation often contain prominent eosinophilic cytoplasmic globules and can occur in the setting of neurofibromatosis type 1. *Acta Neuropathol*. 2019;137(3):521-525. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01960-x>
- Рыжова М.В., Телышева Е.Н., Шайхаев Е.Г., Старовойтов Д.В., Котельникова А.О., Галстян С.А., Оконеchnиков К.В. Современные диагностические возможности молекулярного исследования опухолей мозга в центре нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко. *Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко*. 2021;85(6):92-95. <https://doi.org/10.17116/neiro20218506192>
- Ryzhova MV, Telysheva EN, Shaikhaev EG, Starovoitov DV, Kotelnikova AO, Galstyan SA, Okonechnikov KV. Current diagnostic methods in molecular classification of brain tumors at the Burdenko Neurosurgical Center. *Zhurnal Voprosy Neurokhirurgii im. N.N. Burdenko*. 2021;85(6):98-101. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/neiro20218506198>

Поступила 16.02.2022

Received 16.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Первичная амилоидома головного мозга

© С.В. ЛИШУК, Е.А. ДУБОВА, К.А. ПАВЛОВ

ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Первичная амилоидома головного мозга — редкое опухолевидное поражение, характеризующееся локальным отложением нерастворимых, фибриллярных, белковых агрегатов амилоида в веществе головного мозга без признаков системного амилоидоза. В статье приведены данные литературы и описано собственное наблюдение первичной амилоидомы головного мозга у женщины 61 года. Показаны трудности дооперационной диагностики этого поражения.

Ключевые слова: амилоид, амилоидома, головной мозг.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лишук С.В. — <https://orcid.org/0000-0003-0372-5886>

Дубова Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-7115-538X>

Павлов К.А. — <https://orcid.org/0000-0002-9076-8907>

Автор, ответственный за переписку: Дубова Е.А. — e-mail: dubovaea@gmail.com

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Лишук С.В., Дубова Е.А., Павлов К.А. Первичная амилоидома головного мозга. *Архив патологии*. 2022;84(3):48–51.
<https://doi.org/10.17116/patol20228403148>

Primary amyloidoma of the brain

© S.V. LISHCHUK, E.A. DUBOVA, K.A. PAVLOV

Burnasyan State Research Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

ABSTRACT

Primary brain amyloidoma is rare tumor-like lesion characterized by focal accumulation of insoluble fibrillar aggregates of amyloid in brain tissue without systemic amyloidosis. Literature review and a case report of primary brain amyloidoma in 61 years old female are given with a special attention on the complexity of preoperative diagnosis.

Keywords: amyloid, amyloidoma, brain.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Lishchuk S.V. — <https://orcid.org/0000-0003-0372-5886>

Dubova E.A. — <https://orcid.org/0000-0002-7115-538X>

Pavlov K.A. — <https://orcid.org/0000-0002-9076-8907>

Corresponding author: Dubova E.A. — e-mail: dubovaea@gmail.com

TO CITE THIS ARTICLE:

Lishchuk SV, Dubova EA, Pavlov KA. Primary amyloidoma of the brain. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):48–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403148>

Первичная амилоидома головного мозга (ПАГМ) — редкое опухолевидное поражение, характеризующееся локальным отложением нерастворимых, фибриллярных, белковых агрегатов амилоида в веществе головного мозга без признаков системного амилоидоза. Впервые ПАГМ была описана S. Saltykow в 1935 г. [1]. К 2007 г. в литературе было сказано о 52 наблюдениях первичных амилоидных опухолей центральной нервной системы (ЦНС) и тесно связанных с ним структур, при этом 23 из них локализовались в паренхиме головного мозга, 8 — в спинном мозге, 3 — в гипофизе, 4 — в области основания черепа, 13 — в ганглиях черепных нервов [2], однако истинная распространенность этого состояния неизвестна. Клини-

ческая картина этого заболевания зависит от локализации процесса, а предоперационная диагностика крайне трудна. Изменения при лучевых методах исследования мало специфичны, и диагноз в первую очередь ставится на основании гистологического исследования удаленного образования [3–5].

Приводим собственное наблюдение ПАГМ.

Пациентка 61 года поступила в нейрохирургическое отделение центра в сентябре 2021 г. с жалобами на головокружение и общую слабость. Из анамнеза известно, что она тремя месяцами ранее на фоне относительного благополучия внезапно потеряла сознание. Со слов супруга пациентки, утрата сознания сопровождалась судорогами,

цианозом лица, непроизвольным мочеиспусканием. В ходе обследования по месту жительства при компьютерной томографии головного мозга было выявлено внутримозговое образование в правой лобной доле. Магнитно-резонансная томография головного мозга подтвердила наличие внутримозгового образования в правой лобной доле, накапливающего контрастный препарат, с выраженным перитуморальным отеком и незначительной дислокацией срединных структур. В августе 2021 г. у пациентки было отмечено еще два эпизода генерализованных тонических судорог.

При поступлении состояние пациентки удовлетворительное, сознание ясное. При физикальном обследовании патологических изменений со стороны внутренних органов

не выявлено. Результаты лабораторных методов исследования в пределах нормальных значений.

Пациентке выполнено оперативное вмешательство. В ходе операции в правой лобной доле визуализировано объемное образование плотной консистенции, светло-серого цвета со множеством тромбированных мелких сосудов. Образование растет диффузно, прорастая в функциональные зоны коры головного мозга. Фрагмент ткани образования был отправлен на срочное гистологическое исследование, при котором установлено, что материал представлен только некротическим детритом. Принято решение об удалении объемного образования в пределах функциональных зон головного мозга. С помощью УЗ-аспиратора объемное образование частично удалено.

На плановое патоморфологическое исследование присланы фрагменты тканей неправильной формы серо-желтого цвета размером от 1×1 до 4×3 см, на разрезе напоминающие ткань головного мозга.

При гистологическом исследовании в микропрепаратах после парафиновой проводки интраоперационного материала и в дополнительно взятом материале в ткани головного мозга определяются обширные поля гомогенных слабо базофильных масс, часть которых содержит пылевидные кальцификаты. Описанные отложения окружены тканью мозга с реактивными изменениями глии, имеются немногочисленные сосуды с периваскулярной лимфоплазмноклеточной инфильтрацией (рис. 1). При использовании конго красного гомогенные массы окрашиваются в красный цвет и опалесцируют зеленоватым свечением в поляризационном свете (рис. 2).

Клинически у пациентки были исключены причины и признаки системного амилоидоза. Послеоперационный период протекал гладко. Пациентка в удовлетворительном состоянии выписана из стационара на 13-е сутки после операции с рекомендациями под наблюдение специалистов по месту жительства.

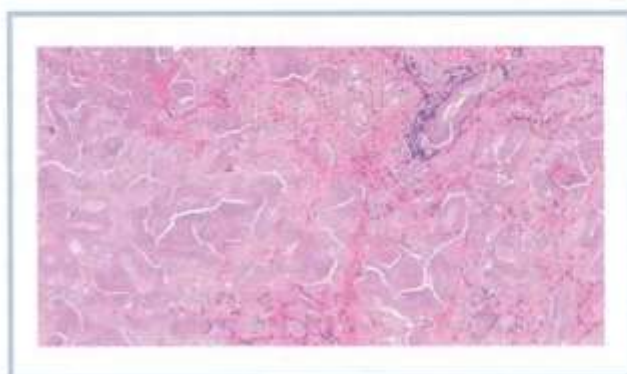


Рис. 1. Морфологическая картина первичной амилоидомы головного мозга.

В ткани головного мозга обширные поля гомогенных слабо базофильных масс с очаговой периваскулярной лимфоплазмноклеточной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином, ×100.

Fig. 1. Pathology of primary brain amyloidoma.

Large aggregates of homogenous basophilic masses with focal perivascular lympho-plasmocytic infiltration. H&E, ×100.

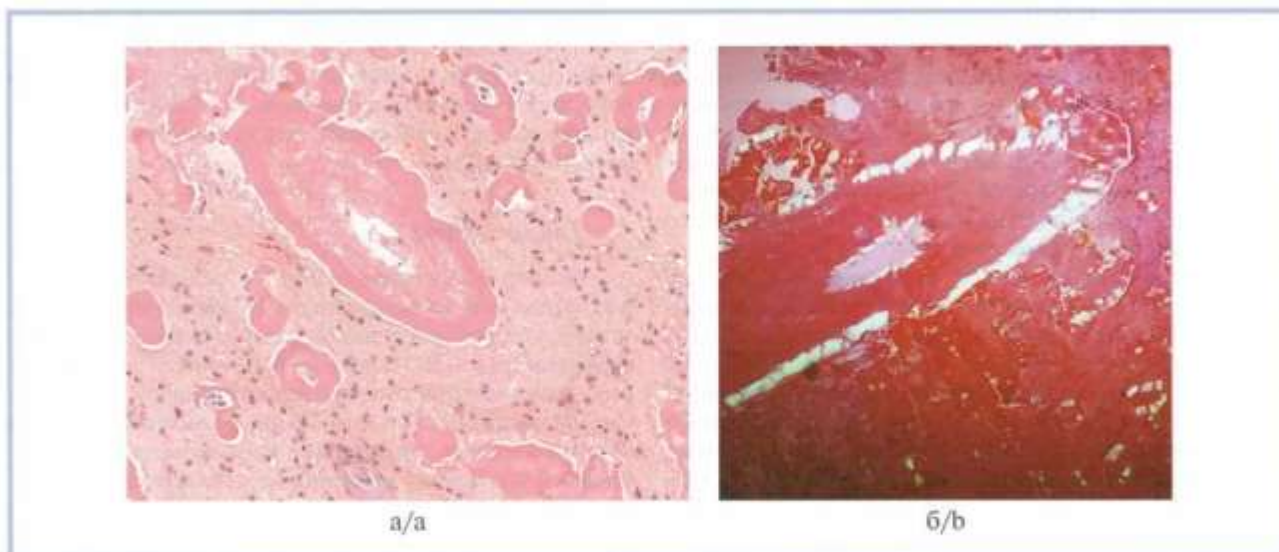


Рис. 2. Амилоид в ткани головного мозга.

а — красноватые гомогенные массы в ткани головного мозга при прямой световой микроскопии; б — участки слабого светлого-зеленоватого свечения в поляризационном свете. Окраска конго красным, ×200.

Fig. 2. Amyloid in brain tissue.

а — brain tissue with red homogenous masses; б — areas of light green luminescence, polarized light. Congo Red, ×200.

Таким образом, у пациентки имелся узловой (локальный) амилоидоз — амилоидома головного мозга.

Амилоид — это нерастворимый фибриллярный белок, который не откладывается в нормальных тканях. При определенных патологических состояниях он может накапливаться во внеклеточном и внутриклеточном пространстве, вызывая амилоидоз. Белки или полипептиды образуют характерные мелкие фибриллы. Факторы, определяющие очаговое или диффузное накопление амилоида, до сих пор не ясны. Локальное отложение амилоида называют амилоидомой. Обычно амилоидомы образуются в условиях дискразии плазматических клеток, при почечно-клеточном раке и медуллярной карциноме щитовидной железы, крайне редко они возникают без генерализованного амилоидоза или гематологических отклонений. Основной белок субъединицы во всех первичных амилоидомах происходит из легких цепей иммуноглобулина (AL-подтип) [1, 3].

Амилоидные отложения в мозге могут иметь различные клинические проявления, включая церебральную амилоидную ангиопатию, старческие бляшки, слабоумие Альцгеймера, отложения, наблюдаемые при губчатых энцефалопатиях — болезни куру, синдроме Герстмана—Штрауслера и болезни Крейтцфельда—Якоба, а также имитировать опухоль [6].

Амилоидомы являются доброкачественными опухолеподобными образованиями, состоящими из локализованных отложений амилоида, и являются самой редкой формой в группе поражений, связанных с амилоидозом. Патогенез такого опухолеподобного отложения амилоида неясен [7]. R.H. Laeng и соавт. [8] предположили, что амилоидомы могут образовываться в ответ на выделение амилоида активированными различными антигенами ламбда-продуцирующими В-клетками, но поскольку ЦНС является иммунологически защищенным органом, воздействие антигенов очень ограничено. В связи с этим церебральная амилоидома — редкое заболевание. В свою очередь, M. Cohen и соавт. [9] указывают на то, что амилоидный белок при воздействии определенных антигенов может вырабатывать генетически предрасположенная микроглия.

Как правило, ПАГМ возникает в виде одиночного локализованного поражения. Однако, согласно имеющимся в литературе данным, примерно в трети наблюдений случается множественный характер поражения. Чаще всего амилоидома локализуется в супратенториальном и подкорковом белом веществе головного мозга и обычно ограничена одним полушарием. Также могут быть поражены спинномозговые и периферические нервы, при этом чаще всего в процесс вовлекается ганглионный узел [2].

Согласно результатам систематического обзора D.P. Bruy и соавт. [3], включавшего 32 статьи с описанием 39 случаев ПАГМ, средний возраст пациентов с ПАГМ составил 49,9 года, и 54% из них были женского пола. Основные клинические симптомы заболевания зависят от локализации образования. Самыми распространенными симптомами являются приступообразная или постоянная головная боль, снижение когнитивных функций, галлюцинации, изменения зрения и односторонние двигательные или сенсорные нарушения.

При компьютерной томографии отложения амилоидного материала обычно имеют вид участков с низкой ин-

тенсивностью, которая повышается при введении контрастного препарата. При магнитно-резонансной томографии амилоидомы могут быть гипо-, гипер- или изоинтенсивными на T1-взвешенных изображениях, что зависит от степени отложения амилоидного белка [4, 10]. Имеются данные о том, что применение F18-фтордезоксиглюкоза-позитронно-эмиссионной томографии в сочетании с клинической картиной повышает чувствительность диагностики ПАГМ до 90% и специфичность до 75% [3]. При диагностике ПАГМ рекомендуется исключить системный амилоидоз и болезни легких цепей, поскольку системный амилоидоз ухудшает прогноз заболевания [10, 11].

При гистологическом исследовании амилоидомы головного мозга характеризуются отложением аморфного эозинофильного белка с окружающим клеточным инфильтратом, состоящим из плазматических клеток, продуцирующих каппа- или ламбда-легкие цепи, без цитологической атипичности, а также немногочисленных зрелых Т-лимфоцитов и макрофагов. В поляризованном свете на препаратах, окрашенных конго красным, в участках отложения амилоида определяется яблочно-зеленое свечение. Последнее является патогномоничным признаком, который универсален для всех форм амилоида [10].

Эффективной терапией системного амилоидоза является аутологичная трансплантация стволовых клеток периферической крови, а у пациентов, которым не показана трансплантация стволовых клеток, применяют высокие дозы мелфалана с дексаметазоном. Установлено, что неинвазивные методы лечения, такие как использование стероидов, облучения или колхицина, неэффективны для лечения пациентов с локализованной амилоидомой. Самый действенный метод лечения как одиночных, так и множественных ПАГМ — хирургическая резекция. Облучение амилоидом применяют в случаях образований, неоперабельных из-за их анатомического расположения. Считается, что лучевая терапия не вызывает регрессии амилоида, который уже отложился, но предотвращает прогрессирование поражения [12].

Амилоидома головного мозга в большинстве случаев имеет доброкачественное течение, однако без хирургического удаления с течением времени способна увеличиваться в размерах. Крайне редко ПАГМ могут осложниться внутримозговым кровоизлиянием [13]. Также в литературе описано одно наблюдение рецидива амилоидомы головного мозга [14].

Заключение

Амилоидома головного мозга — редкое опухолевидное поражение, характеризующееся благоприятным прогнозом, которое может имитировать злокачественные новообразования ЦНС и должно быть включено в дифференциально-диагностический ряд при наличии единичных или множественных опухолевидных поражений в области белого вещества с характерным для компьютерной томографии с контрастным усилением с появлением «гиперплотных областей».

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Löhr M, Kessler AF, Monoranu CM, Grosche J, Linsenmann T, Ernestus RI, Härtig W. Primary brain amyloidoma, both a neoplastic and a neurodegenerative disease: a case report. *BMC Neurol.* 2019;19(1):59. <https://doi.org/10.1186/s12883-019-1274-x>
2. Bookland MJ, Bagley CA, Schwarz J, Burger PC, Brem H. Intracavernous trigeminal ganglion amyloidoma: case report. *Neurosurgery.* 2007;60(3):E574; discussion E574. <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000255361.32689.B3>
3. Bray DP, Rich CW, Ellis JA, Pradilla G, Barrow DL. Minimally invasive resection of intracerebral amyloidoma: case report and systematic review of the literature. *World Neurosurg.* 2020;138:205-213. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.02.072>
4. Sin AH, Gonzalez-Toledo E, Fowler M, Minagar A, Nanda A. Amyloidoma presenting as a butterfly glioma on positron emission tomography scan and magnetic resonance spectroscopy: a case report and review of the literature. *J La State Med Soc.* 2008;160:44-47, 49-50.
5. Tabatabai G, Baehring J, Hochberg FH. Primary amyloidoma of the brain parenchyma. *Arch Neurol.* 2005;62(3):477-480. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.3.477>
6. Pietruszewska W, Wągrowska-Danilewicz M, Klatka J. Amyloidosis of the head and neck: a clinicopathological study of cases with long-term follow-up. *Arch Med Sci.* 2014;10(4):846-852. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.39206>
7. Lebowitz RA, Morris L. Plasma cell dyscrasias and amyloidosis. *Otolaryngol Clin North Am.* 2003;36(4):747-764. [https://doi.org/10.1016/s0030-6665\(03\)00026-4](https://doi.org/10.1016/s0030-6665(03)00026-4)
8. Laeng RH, Altermatt HJ, Scheithauer BW, Zimmermann DR. Amyloidomas of the nervous system: a monoclonal B-cell disorder with monotypic amyloid light chain lambda amyloid production. *Cancer.* 1998;82(2):362-374. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0142\(19980115\)82:2<375::aid-cncr18>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19980115)82:2<375::aid-cncr18>3.0.co;2-w)
9. Cohen M, Lanska D, Roessmann U, Karaman B, Ganz E, Whitehouse P, Gambetti P. Amyloidoma of the CNS. I. Clinical and pathologic study. *Neurology.* 1992;42(10):2019-2023. <https://doi.org/10.1212/wnl.42.10.2019>
10. Kapoor A, Manje Gowda A, Kaur S, Estifan E, Maroules M. A rare case of cerebral amyloidoma mimicking a hemorrhagic malignant central nervous system neoplasm. *Cureus.* 2020;12(3):e7245. <https://doi.org/10.7759/cureus.7245>
11. Foreid H, Barroso C, Evangelista T, Campos A, Pimentel J. Intracerebral amyloidoma: case report and review of the literature. *Clin Neuropathol.* 2010;29(4):217-222. <https://doi.org/10.5414/npp29217>
12. Meier T, Hazenfield JM, Girnius S, Hagen M, Warnick RE, Kharaifa J. A rare case of central nervous system amyloidoma treated with fractionated radiotherapy. *J Neurosurg.* 2017;127(2):338-341. <https://doi.org/10.3171/2016.7.JNS1690>
13. Labro H, Al-Kadhimi Z, Djmil M, Oghlakan R, Alshekhlee A. Brain amyloidoma with cerebral hemorrhage. *J Am Osteopath Assoc.* 2009;109(7):372-375.
14. Eriksson L, Sletten K, Benson L, Westermark P. Tumour-like localized amyloid of the brain is derived from immunoglobulin light chain. *Scand J Immunol.* 1993;37(6):623-626. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1993.tb01673.x>

Поступила 16.02.2022

Received 16.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Зрелая тератома переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента и признаками фокального незиидиобластоза

© О.В. ДОЛЖАНСКИЙ¹, Л.Е. ГУРЕВИЧ², Д.В. БАЗАРОВ¹

¹ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия;

²ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Приводится наблюдение зрелой тератомы переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента (80% опухоли) и признаками незиидиобластоза у женщины 46 лет. При гистологическом исследовании в образовании определялись все компоненты паренхимы поджелудочной железы: ацинусы с междольковыми и интрадольковыми протоками, в ацинарной ткани были рассеяны эндокринные клетки и островки Лангерганса различных размеров и формы, а также островково-протоковые комплексы. Помимо ткани поджелудочной железы в образовании были выявлены хрящ, респираторный эпителий бронхов, ткань тонкой кишки, волосные фолликулы и сальные железы. При иммуногистохимическом исследовании регистрировались признаки фокального незиидиобластоза. В островках определялись инсулин-положительные β -клетки (80% объема островков), а также эндокринные клетки, экспрессирующие глюкагон и соматостатин (по 10% объема островков). К 2020 г. в англоязычной литературе опубликовано всего лишь 4 подобных случая.

Ключевые слова: тератома средостения, поджелудочная железа, незиидиобластоз.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Должанский О.В. — <https://orcid.org/0000-0003-1437-7645>

Гуревич Л.Е. — <https://orcid.org/0000-0002-9731-3649>

Базаров Д.В. — <https://orcid.org/0000-0002-2888-419X>

Автор, ответственный за переписку: Должанский О.В. — e-mail: oleg_dolzshanski@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Должанский О.В., Гуревич Л.Е., Базаров Д.В. Зрелая тератома переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента и признаками фокального незиидиобластоза. *Архив патологии*. 2022;84(3):52–59. <https://doi.org/10.17116/patol20228403152>

Mature teratoma of the anterior mediastinum with a predominance of the pancreatic component and signs of focal nesidioblastosis

© O.V. DOLZHANSKIY¹, L.E. GUREVICH², D.V. BAZAROV¹

¹B.V. Petrovsky Russian Research Center of Surgery, Moscow, Russia;

²Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia

ABSTRACT

A case of a mature anterior mediastinal teratoma with a predominance of the pancreatic component (80% of the tumor) and signs of nesidioblastosis in a 46-year-old woman is presented. During histological examination, all components of the pancreatic parenchyma were determined — acini with interlobular and intralobular ducts, endocrine cells and islets of Langerhans of various sizes and shapes, as well as islet-duct complexes scattered in the acinar tissue. In addition to pancreatic tissue, cartilage, bronchial respiratory epithelium, small intestine tissue, hair follicles, and sebaceous glands were found in the neoplasm. Immunohistochemical examination revealed signs of focal nesidioblastosis. In the islets, insulin-positive β -cells (80.0% of the volume of the islets), as well as endocrine cells expressing glucagon and somatostatin (10.0% of the volume of the islets) were determined. By 2020, only 4 such cases have been published in the English-language literature.

Keywords: mediastinal teratoma, pancreas, nesidioblastosis.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Dolzshanskiy O.V. — <https://orcid.org/0000-0003-1437-7645>

Gurevich L.E. — <https://orcid.org/0000-0002-9731-3649>

Bazarov D.V. — <https://orcid.org/0000-0002-2888-419X>

Corresponding author: Dolzshanskiy O.V. — e-mail: oleg_dolzshanski@mail.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Dolzshanskiy O.V., Gurevich L.E., Bazarov D.V. Mature teratoma of the anterior mediastinum with a predominance of the pancreatic component and signs of focal nesidioblastosis. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):52–59. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403152>

Как известно, наиболее частая локализация тератом — это крестцово-копчиковая область, яичники и средостение [1]. При этом тератомы составляют от 3 до 12% всех опухолей средостения [2, 3].

В отличие от других локализаций в тератомах средостения ткань поджелудочной железы встречается довольно часто — в 40–60% случаев, при этом ее содержание варьирует от незначительного количества до субтотального, когда панкреатическая ткань является основным компонентом опухоли [4, 5].

Признаки неэпидидимоматоза в тератоме средостения отмечаются крайне редко. До настоящего времени в мировой литературе опубликовано всего лишь 4 подобных наблюдения [3, 4, 6, 7].

В настоящей статье приводится наблюдение зрелой тератомы переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента с признаками фокального неэпидидимоматоза.

Больная 46 лет поступила в ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» 21.07.20 с жалобами на боли в грудной клетке и кашель.

Манифестация заболевания наступила в начале 2020 г. в виде одышки. В стационаре по месту жительства выявлены гидроперикард и правосторонний гидроторакс. Выполнялись неоднократные пункции правой плевральной полости. Однако диагноз не был верифицирован, и лечение пациентки не проводилось. Ситуация усугублялась сложной эпидемической обстановкой, обусловленной коронавирусной инфекцией, поэтому проведение диагностического алгоритма было крайне затруднено, а общее состояние пациентки прогрессивно ухудшалось, нарастали одышка и боли за грудиной.

В ходе обследования при компьютерной томографии в переднем средостении было выявлено образование кистозно-солидного характера размером 48×38 мм, спаянное с перикардом. Также отмечались признаки гидроперикарда и экссудативного перикардита (рис. 1, а, б).

22.07.20 больной удалено новообразование средостения с резекцией перикарда. При интраоперационной ревизии в переднем средостении наблюдалось плотное бугристое образование размером 100×80×50 мм, спаянное с перикардом и медиастинальной плеврой правого и левого легкого (рис. 1, в). Произведено удаление опухоли в пределах здоровых тканей, при этом возник дефект перикарда размером 4×5 см. В ходе операции произошло вскрытие кистозного компонента опухоли, при этом было эвакуировано около 500 мл буроватой жидкости. При дальнейшей ревизии обнаружено, что полость образования сообщается с полостью перикарда.

При макроскопическом исследовании определялось многокамерное кистозно-солидное образование серо-желтого цвета, эластичной консистенции размером 110×85×60 мм с крупнобугристой поверхностью и гладкими стенками. Толщина стенок камер кисты колебалась от 4 до 10 мм, в их просвете в незначительном количестве содержалась буроватая жидкость.

Гистологическое исследование: стенка кисты выстлана кубическим, цилиндрическим и многослойным плоским эпителием, представлена фиброзной тканью с очаговой лимфоцитарной инфильтрацией.

Среди фиброзной ткани кисты и в солидных участках определялась ацинарная паренхима поджелудочной железы с протоками и островками (рис. 2, а, б).

В ацинарной ткани рассеяны одиночные эндокринные клетки, небольшие группы эндокриноцитов и островко-

во-подобные комплексы. Эти комплексы могли занимать большую часть ацинарной дольки, имели различные размеры, неправильную форму и нечеткие контуры (рис. 2, а, г), ядра некоторых эндокринных клеток увеличены в размерах в 3 раза и более (рис. 2, е).

При дополнительной вырезке фиксированной в формалине опухоли, помимо ткани поджелудочной железы в образовании выявлены хрящ, респираторный эпителий бронхов, ткань тонкой кишки (см. рис. 2, а, б), волосные фолликулы и сальные железы. Панкреатический компонент составлял около 80% образования.

При иммуногистохимическом исследовании эндокринные клетки экспрессировали хромогранин А и синаптофизин (рис. 3, а, б). При этом β-клетки занимали около 80% объема островков Лангерганса, а также были рассеяны поодиночке или в виде небольших групп в ацинарной паренхиме (рис. 3, в, г). Некоторые β-клетки выявлялись в эпителиальной выстилке протоков. Глюкагоноположительные α-клетки (рис. 3, д) и соматостатинположительные δ-клетки (рис. 3, е) обнаруживались в значительно меньшем количестве с формированием периферического ободка островков Лангерганса, составляя около 10% объема островков.

В ткани поджелудочной железы выявлялись также островково-протоковые комплексы с наличием эндокринных клеток в эпителии протоков (см. рис. 3, д), среди которых часто встречались δ-клетки. Эти клетки также формировали отдельные моnogормональные кластеры в ацинусах поджелудочной железы.

Таким образом, весь комплекс перечисленных морфологических и иммунофенотипических особенностей являлся характерным признаком фокального неэпидидимоматоза эндокринной ткани поджелудочной железы.

На основании клинических данных, макроскопического, гистологического и иммуногистохимического исследований поставлен диагноз: «Зрелая тератома переднего средостения с преобладанием панкреатического компонента, grade 0 (все компоненты тератомы зрелые) по классификации F. Gonzales-Crussi [8], stage I (спайки с плеврой и перикардом) по классификации C.A. Moran и S. Suster [9]».

Послеоперационный период протекал гладко. Пациентка выписана на 10-й день после операции без признаков гидроперикарда и медиастинита. Через 1 год после операции пациентка жалоб не предъявляла. По данным компьютерной томографии грудной клетки признаки рецидива опухоли средостения не выявлены, гидроперикард отсутствует.

Обсуждение

Тератомы составляют 3–12% всех опухолей средостения [2, 3]. В клинике Мэйо (США) было изучено 86 тератом различных локализаций, при этом зрелые тератомы средостения отмечались в 8% случаев [2].

Компонентами тератомы в средостении являются кожа и ее придатки (100% случаев), слизистая желудочно-кишечного тракта (89%), эпителий бронхов (86%), костная и хрящевая ткани (63% случаев) [8].

В отличие от тератом других локализаций ткань поджелудочной железы в средостении встречается довольно часто — в 40–60% наблюдений [5], составляя в среднем, по данным AFIP (США), 54% [8]. При этом содержание ткани поджелудочной железы варьирует от незначительного количества до субтотального, когда панкреатическая

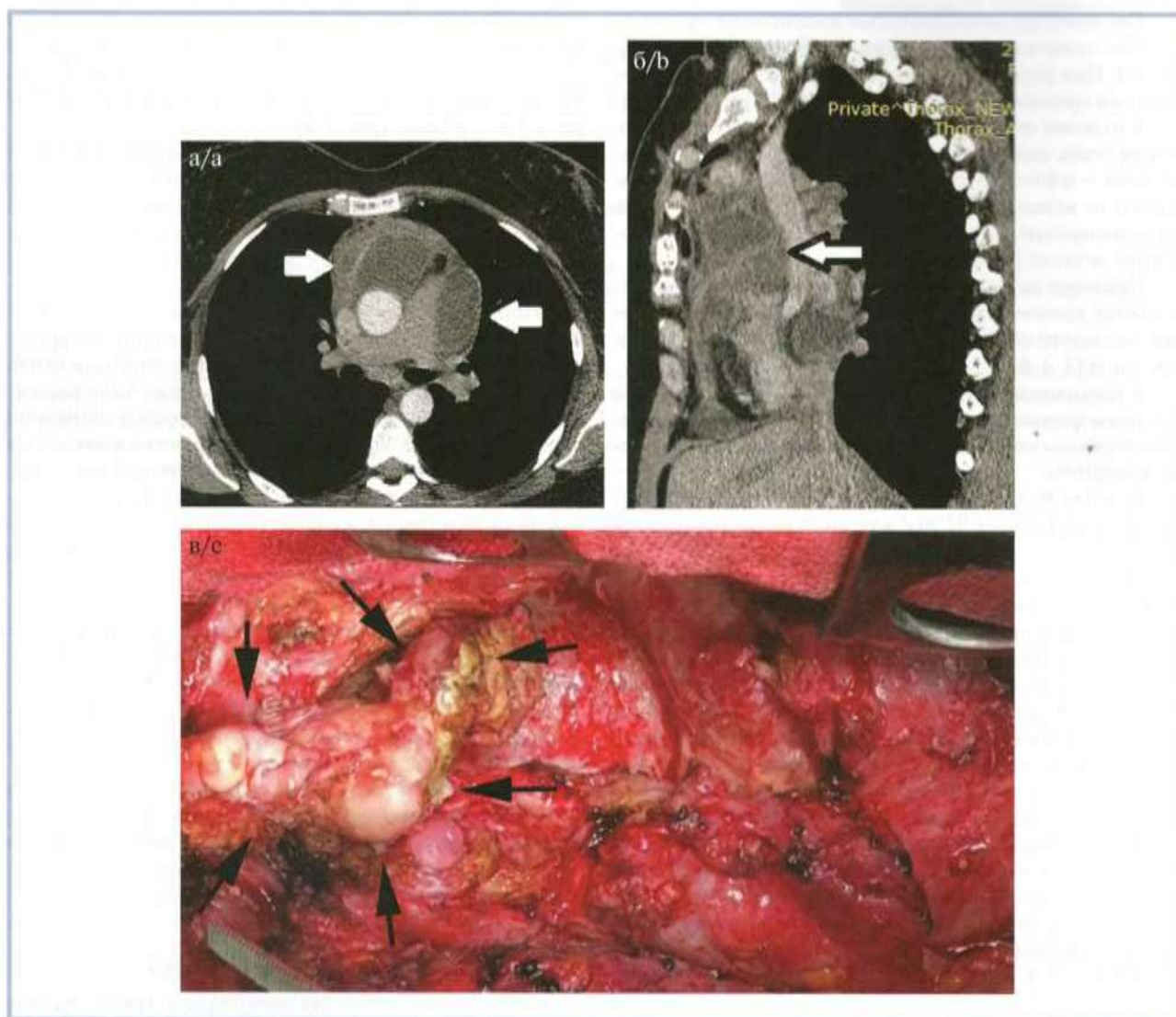


Рис. 1. Зрелая тератома переднего средостения. Компьютерная томография грудной клетки и интраоперационная картина.

а, б — кистозно-солидное образование переднего средостения с множественными полостями, содержащими жидкость и разделенными перегородками (стрелки); диффузное утолщение стенок перикарда и признаки гидроперикарда; в — во время операции в переднем средостении определялось опухолевидное образование размером $100 \times 80 \times 50$ мм, спаянное с перикардом и медиастинальной плеврой легких (стрелки).

Fig. 1. Mature anterior mediastinal teratoma. Computed tomography of the chest and intraoperative picture.

а, б — cystic-solid tumor of the anterior mediastinum with multiple cavities containing fluid and separated by septa (arrows); diffuse thickening of the walls of the pericardium and signs of hydropericardium; в — during the operation, a tumor-like formation $100 \times 80 \times 50$ mm in size, soldered to the pericardium and mediastinal pleura, was determined in the anterior mediastinum (arrows).

ткань является основным компонентом тератомы [4]. Интересно отметить, что в тератомах других локализаций, например в яичниках и яичках, панкреатическая ткань не встречается вовсе [8].

Впервые ткань поджелудочной железы в средостении была обнаружена J. Klob в 1859 г., а подобный случай первый раз был опубликован в англоязычной литературе A.J. Shillitoe и J.E. Wilson в 1957 г. [10, 11].

Панкреатическая ткань может быть не только компонентом тератомы. Существует несколько механизмов появления ткани поджелудочной железы в средостении [12]:

— псевдокиста поджелудочной железы с распространением в средостение;

— aberrантная ткань поджелудочной железы в составе энтерогенной кисты средостения;

— ткань поджелудочной железы как компонент тератомы;

— истинная эктопия поджелудочной железы без анатомической или сосудистой связи с ортотопической поджелудочной железой.

При первом механизме вследствие разрыва протока поджелудочной железы развивается псевдокиста, которая может распространиться из забрюшинного пространства в средостение при пенетрации диафрагмы через аортальное или пищеводное отверстие диафрагмы, а также через треугольник Морганьи или отверстие нижней по-

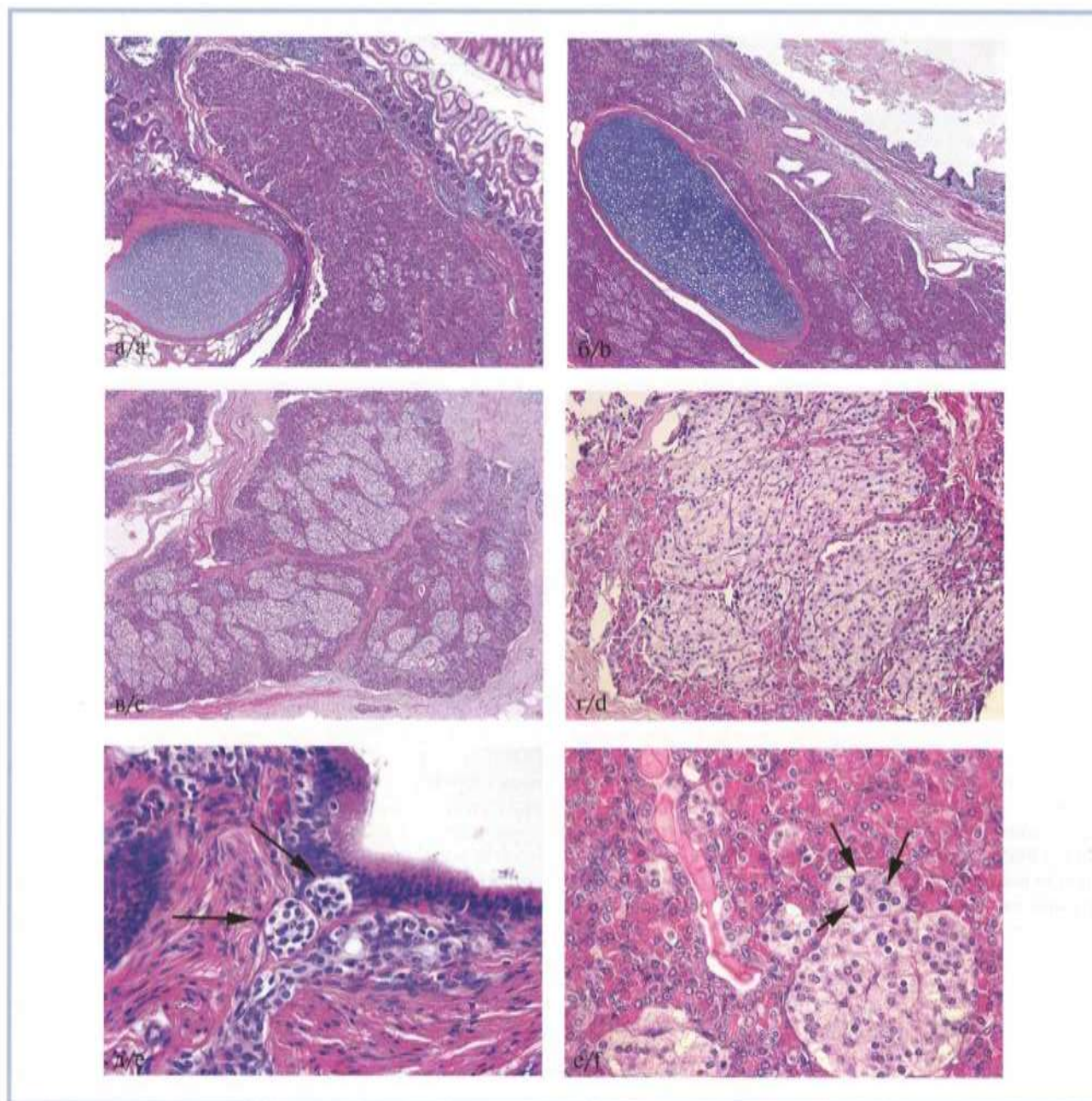


Рис. 2. Зрелая тератома переднего средостения. Микроскопическая картина.

а, б — определяются следующие компоненты тератомы: ткань поджелудочной железы и тонкой кишки, хрящ, респираторный эпителий бронхов; в, г — в панкреатическом компоненте визуализируются островково-подобные комплексы различных размеров и формы, занимающие большую часть ацинарных долек; д — островково-протоковый комплекс с эндокринными клетками, островками Лангерганса (стрелки) и эпителием междолькового протока поджелудочной железы; е — ядра некоторых эндокринных клеток (стрелки) увеличены в 3 раза. Окраска гематоксилином и эозином; а, б — $\times 50$, в, г — $\times 100$, д, е — $\times 200$.

Fig. 2. Mature anterior mediastinal teratoma. Histological picture.

а, б — the following components of teratoma are determined: tissue of the pancreas and small intestine, cartilage, respiratory epithelium of the bronchi; c, d — islet-like complexes of various sizes and shapes are visualized in the pancreatic component, occupying most of the acinar lobules; e — islet-duct complex with endocrine cells, islets of Langerhans (arrows) and epithelium of the interlobular pancreatic duct; f — the nuclei of some endocrine cells (indicated by arrows) are 3 times enlarged. H&E, a, b $\times 50$, c, d $\times 100$, e, f $\times 200$.

лой вены [13—15]. При этом существует анатомическая связь между стенкой псевдокисты и поджелудочной железой. Такие кисты чаще всего располагаются в заднем средостении [15].

Энтерогенные кисты в 20% случаев локализуются в средостении. При этом в стенке кисты иногда выявляет-

ся aberrantная ткань поджелудочной железы [16]. Такие кисты также чаще всего располагаются в заднем средостении [17], но могут локализоваться и в легком, сообщаясь со стенкой пищевода [18, 19].

Тератомы с наличием ткани поджелудочной железы располагаются в основном в правой части переднего средосте-

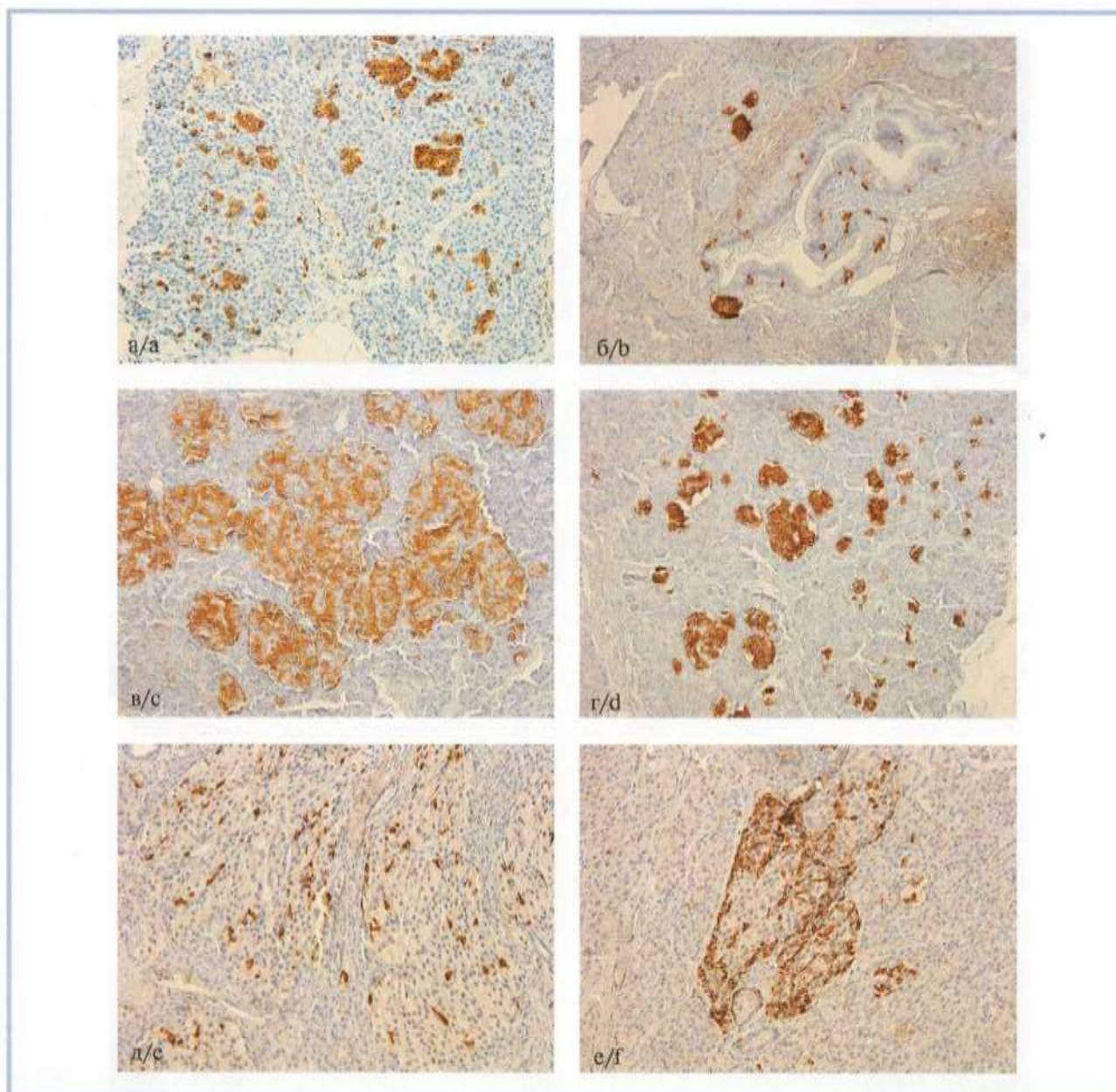


Рис. 3. Зрелая тератома переднего средостения. Эндокринный компонент ткани поджелудочной железы.

а — островково-подобные комплексы и эндокринные клетки, рассеянные в ацинарной ткани; б — эндокринные клетки в составе эпителиальной выстилки междолькового протока поджелудочной железы, ассоциированные эндокринные кластеры с формированием островково-протокового комплекса; в, г — β -клетки занимают более $2/3$ объема островков Лангерганса, а также рассеяны в виде небольших групп в ацинусах, д — незначительное количество α -клеток преимущественно по периферии островков Лангерганса; е — периферический ободок островков Лангерганса из δ -клеток.

ИГХ-реакция с антителами к: а — хромогранину А, $\times 100$; б — синаптофизину, $\times 200$; в, г — инсулину, $\times 200$; д — глюкагону, $\times 200$; е — соматостатину, $\times 200$.

Fig. 3. Mature anterior mediastinal teratoma. Endocrine tissue component of the pancreas.

а — islet-like complexes and endocrine cells scattered in acinar tissue; б — endocrine cells in the epithelial lining of the interlobular pancreatic duct, associated endocrine clusters with the formation of an islet-duct complex; в, г — β -cells occupy more than $2/3$ of the volume of the islets of Langerhans, and are also scattered in small groups in the acini, д — a small number of α -cells, mainly along the periphery of the islets of Langerhans; е — peripheral rim of the islets of Langerhans from δ -cells.

Immunohistochemical reaction with antibodies to: а — chromogranin A, $\times 100$; б — synaptophysin, $\times 200$; в, г — insulin, $\times 200$; д — glucagon, $\times 200$; е — somatostatin, $\times 200$.

ния [20]. При отсутствии других компонентов в образовании ткань поджелудочной железы следует расценивать как эктопию. Важным условием в таких случаях является отсутствие анатомической связи с ортотопической поджелудоч-

ной железой. Эмбриогенез эктопии поджелудочной железы связан с аномальной дифференцировкой плюрипотентных клеток вентральной части передней кишки или с нарушением процесса миграции клеток панкреатической почки [21].

Существует точка зрения, что большинство случаев эктопии поджелудочной железы в средостение на самом деле является тератомами с преобладанием панкреатического компонента, поэтому очень важен поиск других компонентов тератомы, которые могут быть дифференцированными [4]. В нашем наблюдении при подрезке сырого материала помимо ткани поджелудочной железы удалось выявить зрелую ткань кожи, хрящ, эпителий бронхов и слизистую тонкой кишки. В связи с этим степень дифференцировки тератомы классифицирована как grade 0 по классификации F. Gonzales-Crussi [8].

Возраст больных с тератомами средостения варьирует от 5 до 66 лет, составляя в среднем 32 года, при этом преобладают лица женского пола (64%) [14, 22, 23]. Клинические симптомы неспецифичны [21]. Наиболее часто пациенты предъявляют жалобы на боли в грудной клетке, кашель и повышение температуры [24]. Иногда отмечается гипогликемия [11]. При вовлечении в процесс пищевода может быть рвота [21]. В некоторых случаях отмечается пережатие верхней полой вены и крупных бронхов с развитием пневмонии [17]. Вследствие сдавления опухолью соседних органов может наблюдаться выпот в плевральную полость и перикард, а при разрыве тератомы развивается тампонада перикарда [12, 24].

При макроскопическом исследовании образование средостения чаще всего представляет собой кисту размером от 2,4 до 20 см в диаметре [23, 25], но в некоторых случаях имеет преимущественно солидный характер строения [22]. Толщина стенки кисты составляет 4–8 мм, содержимое кисты — это жидкость коричневого цвета [18]. Средний размер образования 9,4 см [25].

При гистологическом исследовании стенка кисты представлена фиброзной тканью, выстлана кубическим или столбчатым эпителием с участками псевдостратификации [26]. Однако эпителиальной выстилки может и не быть, в этом случае по гистологическому строению киста напоминает псевдокисту поджелудочной железы с кристаллами холестерина, кальцинозом, гиалинозом и большим количеством пенистых макрофагов, формирующих гранулемы [18].

Среди фиброзной ткани кисты и в солидных участках определяются структуры, напоминающие междольковые и внутريدольковые протоки поджелудочной железы, с муцинозным и столбчатым эпителием. Величина ацинусов варьирует от небольших групп по 3–4 клетки до крупных агрегатов неправильной формы [18].

При локализации в переднем средостении образование может быть связано с тимусом, при этом помимо панкреатической ткани определяются тельца Гассала [18, 26].

Среди ацинусов рассеяны эндокринные клетки и островки Лангерганса, имеющие различные размеры и формы, с формированием островково-протоковых комплексов [26]. Нормальные островки Лангерганса (округлой или овальной формы, менее 400 мкм в диаметре, с четко выраженными краями) не определяются, иногда они формируют дольки или располагаются в виде конгломератов вокруг протоков [6, 27].

Эндокринные клетки располагаются поодиночке либо формируют кластеры с нечеткими контурами неправильной формы с признаками вакуолизации и почкования вокруг протоков [22, 27].

Общая объемная плотность эндокринных клеток [28] по сравнению с таковой нормальной поджелудочной железы значительно увеличена. В некоторых случаях эндо-

кринные клетки составляют до 50% панкреатической ткани, при этом ацинарные клетки замурованы в полях из эндокриноцитов [6].

При иммуногистохимическом исследовании в островках Лангерганса и островково-протоковых комплексах могут преобладать инсулиноположительные β -клетки, а также эндокринные клетки, экспрессирующие гастрин и панкреатический полипептид [19, 26]. Как известно, гастринсодержащие клетки в большом количестве определяются в поджелудочной железе плода и крайне редко — в поджелудочной железе у взрослых [26].

В центре островков Лангерганса располагаются β -клетки (более $\frac{2}{3}$ объема островков), а также рассеиваются в виде небольших групп в ацинусах. Некоторые β -клетки выявляются в эпителиальной выстилке протоков. В значительно меньшем количестве обнаруживаются α -клетки с положительной реакцией к глюкагону и δ -клетки с положительной реакцией к соматостатину с формированием периферического ободка островков Лангерганса [6, 27].

Вместе с тем δ -клетки в большом количестве выявляются в дуктулоинсулярных комплексах. В отдельных случаях общая объемная плотность δ -клеток по сравнению с таковой нормальной ткани поджелудочной железы возрастает в 7–40 раз [6].

Как известно, такие морфологические изменения являются признаками незидиобластоза [29], причем эти признаки могут определяться как в эктопических очагах, так и в панкреатическом компоненте тератомы.

Истинные эндокринные опухоли, особенно с островковым типом строения, в отличие от незидиобластоза имеют моnogормональный состав при отсутствии других типов островковых клеток или с наличием небольшой и хаотично распределенной минорной популяции [29].

Первый случай эктопического незидиобластоза был опубликован A. Risaliti и S. Pizzolitto в 1989 г. [30]. С тех пор до 2020 г. было описано около 10 случаев незидиобластоза эндокринной ткани поджелудочной железы [26, 31, 32]: в перипанкреатической ткани, в мягких тканях вокруг портальной вены, стенке тощей и подвздошной кишки, дивертикуле Меккеля, переднем средостении.

Наблюдения с незидиобластозом в тератомах переднего средостения и крестцово-копчиковой области были опубликованы P.J. Dunn в 1984 г. [6], J.M. Resnick, J.C. Manivel в 1994 г. [7], W. Weichert и соавт. в 2010 г. [4], T. Agrawal и соавт. в 2016 г. [3].

Дифференциальную диагностику тератомы средостения следует проводить с перикардиальной и бронхогенной кистой, кистозной тимомой, лимфангиомой, эхинококкозом, эктопией ткани щитовидной железы [12, 22]. При этом важно отметить, что наличие в образовании компонентов сальных желез, а также ткани щитовидной и паращитовидной желез при отсутствии других гетерологических элементов не является признаком тератомы. Такие изменения принято считать пороком развития [9].

Лечение тератом средостения только хирургическое. Прогноз в большинстве случаев очень хороший [12]. Однако описан 1 случай развития протоковой аденокарциномы средостения в эктопической ткани поджелудочной железы [17]. Однако в этом случае надо помнить, что образование средостения может быть спаяно с тимусом, плеврой, перикардом, диафрагмальным нервом и это не является признаком озлокачествления [17].

Незидиобластоз ткани поджелудочной железы в очагах эктопии и тератомах может ассоциироваться с синдро-

мом Беквика—Видемана, синдромом множественной эндокринной неоплазии, нейробластомой и болезнью Гиппеля—Линдау [27].

В некоторых случаях в тератоме средостения благодаря протеолитическим ферментам может развиваться кровотечение с тампонадой перикарда или сформироваться псевдокиста с разрывом в средостение, что требует срочного оперативного вмешательства [9, 12, 17]. Кроме того, ферменты поджелудочной железы нередко способствуют формированию спаек с плеврой и перикардом. В связи с этим возможны нерадикальное удаление образования и рецидивы [33]. В настоящем наблюдении у больной отмечался экссудативный перикардит, выявлены спайки с соседними органами, в связи с чем определена стадия (stage) I по классификации C.A. Moran и S. Suster [9].

Заключение

В статье представлено редкое наблюдение зрелой тератомы переднего средостения с преобладанием ткани поджелудочной железы и признаками фокальной формы неэпидидиобластоза.

В плане клинической диагностики такой случай представлял определенные трудности, поскольку заболевание манифестировало осложнениями, включая гидроторакс и гидроперикард, что привело к неправильной трактовке

природы поражения. Получение неинформативного материала при пункции опухоли явилось причиной задержки в постановке правильного диагноза. Учитывая данные интраоперационной ревизии можно заключить, что при подобном типе тератомы средостения нельзя рассчитывать на эффективность трансторакальной биопсии и надо сразу рассматривать хирургическое лечение как единственно эффективное и радикальное.

Панкреатическая ткань в средостении может выявляться в составе псевдокисты поджелудочной железы или энтерогенной кисты средостения, быть компонентом тератомы средостения или признаком эктопии поджелудочной железы.

По данным литературы, в ткани поджелудочной железы, выявляемой в средостении, в отдельных случаях могут определяться признаки неэпидидиобластоза, причем как в эктопических очагах, так и в панкреатическом компоненте тератомы. До сих пор остается неизвестным, имеются ли при этом признаки неэпидидиобластоза в ортотопической поджелудочной железе? Такой информации при обзоре литературы мы не нашли. Тем не менее нашей пациентке было рекомендовано наблюдаться у эндокринолога.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Wang J, Yin Y, Cai Z, Shen C, Yin X, Chen X, Zhao Z, Zhang B. Pediatric pancreatic teratoma: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(46):e18001. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018001>
- Lewis BD, Hurt RD, Payne WS, Farrow GM, Knapp RH, Muhm JR. Benign teratomas of the mediastinum. *J. Thorac Cardiovasc Surg.* 1983;86(5):727-731.
- Agrawal T, Blau AJ, Chwals WJ, Tischler AS. A unique case of mediastinal teratoma with mature pancreatic tissue, nesidioblastosis, and aberrant Islet differentiation: A case report and literature review. *Endocr Pathol.* 2016;27(1):21-24. <https://doi.org/10.1007/s12022-015-9393-4>
- Weichert W, Koch M, Schmidt B, Krüll M, Badakhshi H, Neudecker J, Rogalla P, Rückert JC. Mature mediastinal teratoma with subtotal unidirectional pancreatic differentiation. *Pathol Res Pract.* 2010;206(5):346-348. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2009.06.009>
- Yamaguchi K, Morikawa T, Sugiura H, Okushiba S, Kondo S, Shimizu M, Katoh H. A cyst of benign mediastinal teratoma demonstrating a peculiar development: report of a case. *Surg Today.* 2002;32(2):159-162. <https://doi.org/10.1007/s005950200011>
- Dunn PJ. Pancreatic endocrine tissue in benign mediastinal teratoma. *J Clin Pathol.* 1984;37(10):1105-1109. <https://doi.org/10.1136/jcp.37.10.1105>
- Resnick JM, Manivel JC. Immunohistochemical characterization of teratomatous and fetal neuroendocrine pancreas. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118(2):155-159.
- Hruban RH, Pitman MB, Klimstra, DS. *Tumors of the pancreas*. Afip Atlas of tumor pathology. 4th Series Fascicle 6. 6th ed. Washington, DC: American Registry of Pathology; 2007.
- Marchevsky AM, Wick MR. *Pathology of the mediastinum*. 1st ed. Cambridge University Press; 2014.
- Shillito AJ, Wilson JE. Enterogenous cyst of thorax with pancreatic tissue as a constituent. *J Thorac Surg.* 1957;34(6):810-814.
- Njem JM, Benjamin Ugwu B, Collins J, Emmanuel I, Philip OA, Awodi J. Aberrant pancreatic tissue in a giant mediastinal cyst: an uncommon entity. *J Cardiothorac Surg.* 2019;14(1):134. <https://doi.org/10.1186/s13019-019-0955-2>
- Li WW, Boven WJ, Jurhill RR, Bonta PI, Annema JT, Mol BA. Ectopic pancreas in a giant mediastinal cyst. *Clin. Respir J.* 2016;10(1):125-128. <https://doi.org/10.1111/crj.12176>
- Bhasin DK, Rana SS, Rao C, Gupta R, Kang M, Sinha SK, Nagi B, Singh K. Clinical presentation, radiological features, and endoscopic management of mediastinal pseudocysts: experience of a decade. *Gastrointest Endosc.* 2012;76(5):1056-1060. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2012.06.021>
- Rokach A, Izbicki G, Deeb M, Bogot N, Arish N, Hadas-Halperen I, Azulai H, Bohadana A, Golomb E. Ectopic pancreatic pseudocyst and cyst presenting as a cervical and mediastinal mass: case report and review of the literature. *Diagn Pathol.* 2013;8:176. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-176>
- Tamura Y, Takahama M, Kushibe K, Taniguchi S. Ectopic pancreas in the anterior mediastinum. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;53(9):498-501. <https://doi.org/10.1007/s11748-005-0095-6>
- Sentís MI, Sanchis JB, Gimferrer Garolera JM, Biela MC, Garay MR, Ruz JR. Mediastinal enteric cyst: unusual clinical presentation and histopathology. *Arch Bronconeumol.* 2004;40(4):185-187.
- Romain PS, Muehlebach G, Damjanov I, Fan F. Adenocarcinoma arising in an ectopic mediastinal pancreas. *Ann Diagn Pathol.* 2012;16(6):494-497. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2011.04.005>
- Carr MJ, Deiraniya AK, Judd PA. Mediastinal cyst containing mural pancreatic tissue. *Thorax.* 1977;32(4):512-516. <https://doi.org/10.1136/thx.32.4.512>
- Perez-Ordóñez B, Wesson DE, Smith CR, Asa SL. A pancreatic cyst of the anterior mediastinum. *Mod Pathol.* 1996;9(3):210-214.

20. Byun CS, Park IK, Kim H, Yu W. Ectopic pancreas with hemorrhagic cystic change in the anterior mediastinum. *Korean J. Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;45(2):131-133. <https://doi.org/10.5090/kjtc.2012.45.2.131>
21. Wang W, Li K, Qin W, Sun H, Zhao C. Ectopic pancreas in mediastinum: report of 2 cases and review of the literature. *J. Thorac Imaging.* 2007;22(3):256-258. <https://doi.org/10.1097/01.rti.0000213587.44719.a7>
22. Koh HM, Chang JW, Jeong SY, Hyun CL, Kim YS, Jang BG, Maeng YH. Ectopic pancreas presenting as a solid mediastinal mass. *Int J Surg Pathol.* 2015;23(7):585-588. <https://doi.org/10.1177/1066896915596810>
23. Zhao H, Zhang Z, Li X, Liu J, Zhang H, Chen G, Chen J. Resection of anterior mediastinal ectopic pancreas by right thoracoscopy: A case report. *Mol Clin Oncol.* 2019;11(2):147-150. <https://doi.org/10.3892/mco.2019.1878>
24. Zhang L, Peng LQ, Yu JQ, Yuan HM, Chu ZG, Zeng HJ, Wei B. Ectopic pancreas in the anterior mediastinum: A report of two cases and review of the literature. *Oncol Lett.* 2014;7(4):1053-1056. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.1840>
25. Iijima Y, Iwai S, Yamagata A, Motono N, Usuda K, Kumagai M, Takeuchi S, Yamagishi S, Koizumi K, Uramoto H. Anterior mediastinal ectopic pancreatic cyst incidentally identified by pericarditis: a case report. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2021;69(3):597-600. <https://doi.org/10.1007/s11748-020-01537-6>
26. Al-Salam S, Ashari MA. Ectopic pancreatic tissue in the anterior mediastinum. *Virchows Arch.* 2006;448(5):661-663. <https://doi.org/10.1007/s00428-006-0159-8>
27. Schier F, Sauerbrey A, Kosmehl H. A Meckel's diverticulum containing pancreatic tissue and nesidioblastosis in a patient with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Pediatr Surg Int.* 2000;16(1-2):124-127. <https://doi.org/10.1007/s003830050038>
28. Chalkey HW. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. *J Natl Cancer Inst.* 1943;4:47-53.
29. Должанский О.В., Гуревич Л.Е., Пальцева Е.М. Патоморфологическая диагностика опухолеподобных образований поджелудочной железы. Учебное пособие. М.: Шико; 2021. Dolzhanskij OV, Gurevich LE, Pal'tseva EM. Patomorfologicheskaya diagnostika opukholepodobnykh obrazovaniy podzheleduchoj zhelezy. Uchebnoe posobie. M.: Shiko; 2021. (In Russ.).
30. Risaliti A, Pizzolitto S. Nesidioblastosis arising from heterotopic pancreas and presenting with hypertension. A clinical immunohistochemical and ultrastructural study. *Ann Chir.* 1989;43:459-463.
31. Lopes AA, Miranda AC, Maior MS, Mello RV, Bandeira FA. Nesidioblastosis associated with pancreatic heterotopia as a differential diagnosis of hypoglycemia: a literature review and case report. *Am J Case Rep.* 2020;21:e922778. <https://doi.org/10.12659/AJCR.922778>
32. Yasoshima H, Nakata Y, Ohkubo E, Matsuno Y, Sakurai K, Kubota A, Minagawa K. An autopsy case of pancreatic and ectopic nesidioblastosis. *Pathol Int.* 2001;51(5):376-379. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1827.2001.01209.x>
33. Ayadi-Kaddour A, Ismail O, Hassen F, Smati B, Djilani H, Kilani T, Mezni FE. Benign mature teratomas of the mediastinum. *Rev Mal Respir.* 2008;25(5):531-538. [https://doi.org/10.1016/s0761-8425\(08\)71610-3](https://doi.org/10.1016/s0761-8425(08)71610-3)

Поступила 07.02.2022

Received 07.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки

© С.В. ГАППОЕВ^{1, 2}, В.А. ХОРЖЕВСКИЙ¹, А.К. КИРИЧЕНКО¹, Е.В. АЛЫМОВА², И.В. ВЕРШИНИН²,
А.Г. ЛЕВКОВИЧ¹

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия;

²КГБУЗ «Красноярское краевое патолого-анатомическое бюро», Красноярск, Россия

РЕЗЮМЕ

Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки (ТПФКП) — крайне редкий гистологический вариант почечно-клеточной карциномы, еще не включенный в перечень опухолей ВОЗ. Эта опухоль имеет характерное морфологическое строение, поразительно напоминающее фолликулярную карциному щитовидной железы, но отличающийся от нее иммунофенотип опухолевых клеток. ТПФКП имеет индолентное клиническое течение, редко метастазирует, и даже развитие метастазов не означает неблагоприятный прогноз для пациента. Демонстрируется наблюдение ТПФКП, диагностированной у больного 38 лет, удаленной методом очаговой резекции почки, имевшей клинические проявления в течение 8 лет и не давшей за это время метастазов. Представляем первый случай ТПФКП в русскоязычной литературе. Описание содержит макроскопические и микроскопические характеристики опухоли, иммуногистохимический профиль, краткое обсуждение вопросов дифференциальной диагностики.

Ключевые слова: карцинома почки, тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки, иммуногистохимия.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гаппоев С.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6789-4860>

Хоржевский В.А. — <https://orcid.org/0000-0002-9196-7246>

Кириченко А.К. — e-mail: krasak.07@mail.ru

Алымова Е.В. — <https://orcid.org/0000-0003-1815-0616>

Вершинин И.В. — <https://orcid.org/0000-0002-8122-4422>

Левкович Л.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-8379-2522>

Автор, ответственный за переписку: Хоржевский В.А. — e-mail: vladpatholog@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Гаппоев С.В., Хоржевский В.А., Кириченко А.К., Алымова Е.В., Вершинин И.В., Левкович Л.Г. Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки. *Архив патологии*. 2022;84(3):60–64. <https://doi.org/10.17116/patol20228403160>

Thyroid-like follicular carcinoma of the kidney

© S.V. GAPPOEV^{1, 2}, V.A. KHORZHEVSKII^{1, 2}, A.K. KIRICHENKO¹, E.V. ALYMOVA², I.V. VERSHININ², L.G. LEVKOVICH¹

¹Prof. V.F. Voino-Yasnetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

²Krasnoyarsk State Regional Bureau of Pathology, Krasnoyarsk, Russia

ABSTRACT

Thyroid-like follicular carcinoma of the kidney (TLFCK) is an extremely rare histological variant of renal cell carcinoma, not yet included in the WHO list of tumors. This tumor has a characteristic morphological structure strikingly resembling follicular carcinoma of the thyroid gland, but differing from it by the immunophenotype of tumor cells. TLFCK is characterized by an indolent clinical course, rarely metastases, and even the presence of metastases does not lead to a worsening of the prognosis for the patient. Described a case of TLFCK diagnosed in a 38-year-old patient, observed clinically for 8 years, without metastases during this time, and removed by focal kidney resection. The paper presents the macroscopic and microscopic characteristics of the tumor, immunohistochemical profile, and discusses the issues of differential diagnosis.

Keywords: renal carcinoma, thyroid-like follicular renal carcinoma, immunohistochemistry.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Gappoev S.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6789-4860>

Khorzhevskii V.A. — <https://orcid.org/0000-0002-9196-7246>

Kirichenko A.K. — e-mail: krasak.07@mail.ru

Alymova E.V. — <https://orcid.org/0000-0003-1815-0616>

Vershinin I.V. — <https://orcid.org/0000-0002-8122-4422>

Levkovich L.G. — <https://orcid.org/0000-0001-8379-2522>

Corresponding author: Khorzhevskii V.A. — e-mail: vladpatholog@yandex.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Gappoev SV, Khorzhevskii VA, Kirichenko AK, Alymova EV, Vershinin IV, Levkovich LG. Thyroid-like follicular carcinoma of the kidney. *Archive of Pathology = Arkhir patologii*. 2022;84(3):60–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403160>

Первые сообщения о необычной опухоли почки, морфологически напоминающей фолликулярную карциному щитовидной железы, прозвучали на ежегодном конгрессе Американской и Канадской академии патологии (USCAP) в 2004 г. [1]. После этого, в 2006 и 2007 г., последовали публикации с описанием единичных наблюдений этого новообразования [2, 3], обозначенного как «опухоль, напоминающая фолликулярную карциному щитовидной железы», при этом подчеркивалось, что степень ее злокачественности не изучена до конца. В 2009 г. M.B. Amin и соавт. [4] описали серию из 6 наблюдений этой опухоли. В статье были представлены первые случаи с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов и отдаленными метастазами в легких, что позволило впервые применить по отношению к этой опухоли термин «карцинома», а новая нозологическая единица впервые получила название «тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки» (ТПФКП). Несмотря на то что после первых докладов о ТПФКП прошло уже 17 лет, к настоящему времени в мировой литературе описано не более 60 наблюдений этой опухоли. Обсуждается включение ТПФКП в новую редакцию Классификации опухолей мочевой системы ВОЗ.

В связи этим представляется актуальным поделиться собственным опытом диагностики ТПФКП.

Мужчина 38 лет обратился в лабораторию для проведения консультативного пересмотра материала опухоли почки. Из анамнеза известно, что в 2013 г. при проведении УЗИ в верхнем сегменте правой почки было обнаружено новообразование размером 1 см. В 2020 г. после дорожно-транспортного происшествия был эпизод макрогематурии, который пациент связывал с травмой. Согласно протоколу УЗИ, проведенного в 2021 г., в верхнем полюсе правой почки определялось гипоехогенное очаговое образование размером 2,8×1,54 см с деформацией контура почки, очаговыми кальцинатами. Результаты МСКТ: в переднем верхнем сегменте правой почки обнаружено гиподенсивное образование овоидной формы, ограниченное почкой,

с четкими ровными контурами размером 17×17×13 мм, неоднородной структуры, плотностью от +10 до +50 ед.Н. Левая почка без патологии. Проведено дополнительное обследование больного: выполнено дуплексное УЗИ щитовидной железы, не показавшее признаков опухолевого поражения. Исследован уровень гормонов щитовидной железы в крови: Т₄ свободный 1,3 нг/дл (0,80—2,10), ТТГ 0,747 мкМЕ/мл (0,27—4,2). Также у пациента обнаружены множественные подкожные новообразования мягких тканей предплечья и плеча диаметром до 2 см. Хирург заподозрил нейрофиброматоз. Поскольку не было обнаружено признаков поражения почечных вен и метастатического поражения лимфатических узлов, учитывая объем и положение опухоли, была выполнена лапароскопическая частичная нефрэктомия.

Согласно протоколу прижизненного патолого-анатомического исследования, максимальный размер опухоли составил 1,4 см (рис. 1). При исследовании макропрепарата отмечено, что опухоль имеет узловатый вид, отграничена от окружающей ткани тонкой капсулой. На разрезе опухоль серо-желтого цвета с кистозными и губчатыми структурами, заполненными содержимым коллоидного вида. В просвете части кист определяются кровоизлияния.

При микроскопическом исследовании выявлена опухоль, состоящая из фолликулярных образований различных размера и формы, частью заполненных эозинофильным коллоидоподобным содержимым, выстланных однорядным эпителием. Эпителиальные клетки, выстилающие фолликулярные структуры, имеют кубическую форму с округлыми, слегка неправильной формы ядрами и небольшими базофильными ядрышками, со слабо эозинофильной цитоплазмой. Митозы не определяются. Папиллярные структуры встречаются редко. В таких участках опухолевые клетки формируют выступающие в просвет крупных фолликулов сосочки, покрытые кубическим эпителием, не отличающимся от эпителия фолликулов, содержащие ножку с волокнистой или отечной стромой. Некоторые

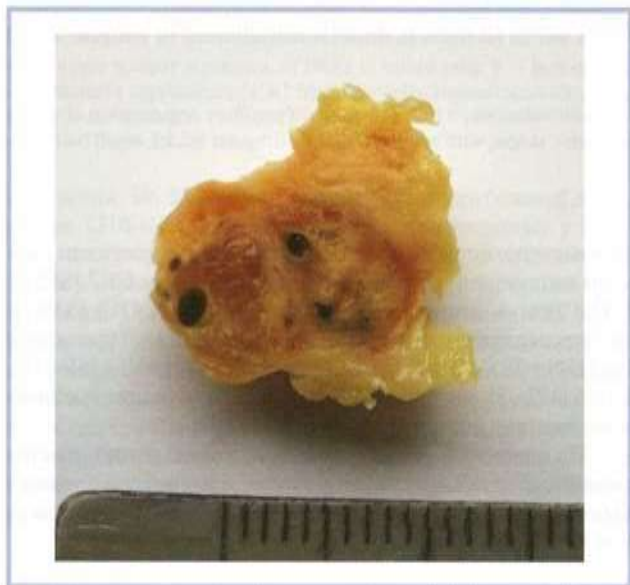


Рис. 1. Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки. Макроскопический вид.

Fig. 1. Thyroid-like follicular renal carcinoma Macroscopic view.

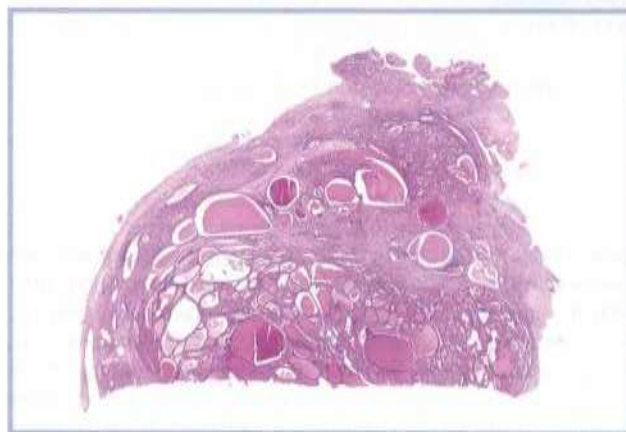


Рис. 2. Строение опухоли при обзорном увеличении.

Опухоль напоминает ткань щитовидной железы. Определяется большое количество фолликулярных и кистозных структур, заполненных эозинофильным коллоидоподобным субстратом. Окраска гематоксилином и эозином, ×1,5.

Fig. 2. The structure of the tumor at an overview magnification.

The tumor substrate resembles thyroid tissue. A large number of follicular and cystic structures filled with an eosinophilic colloid-like substrate are identified. H&E, ×1.5.

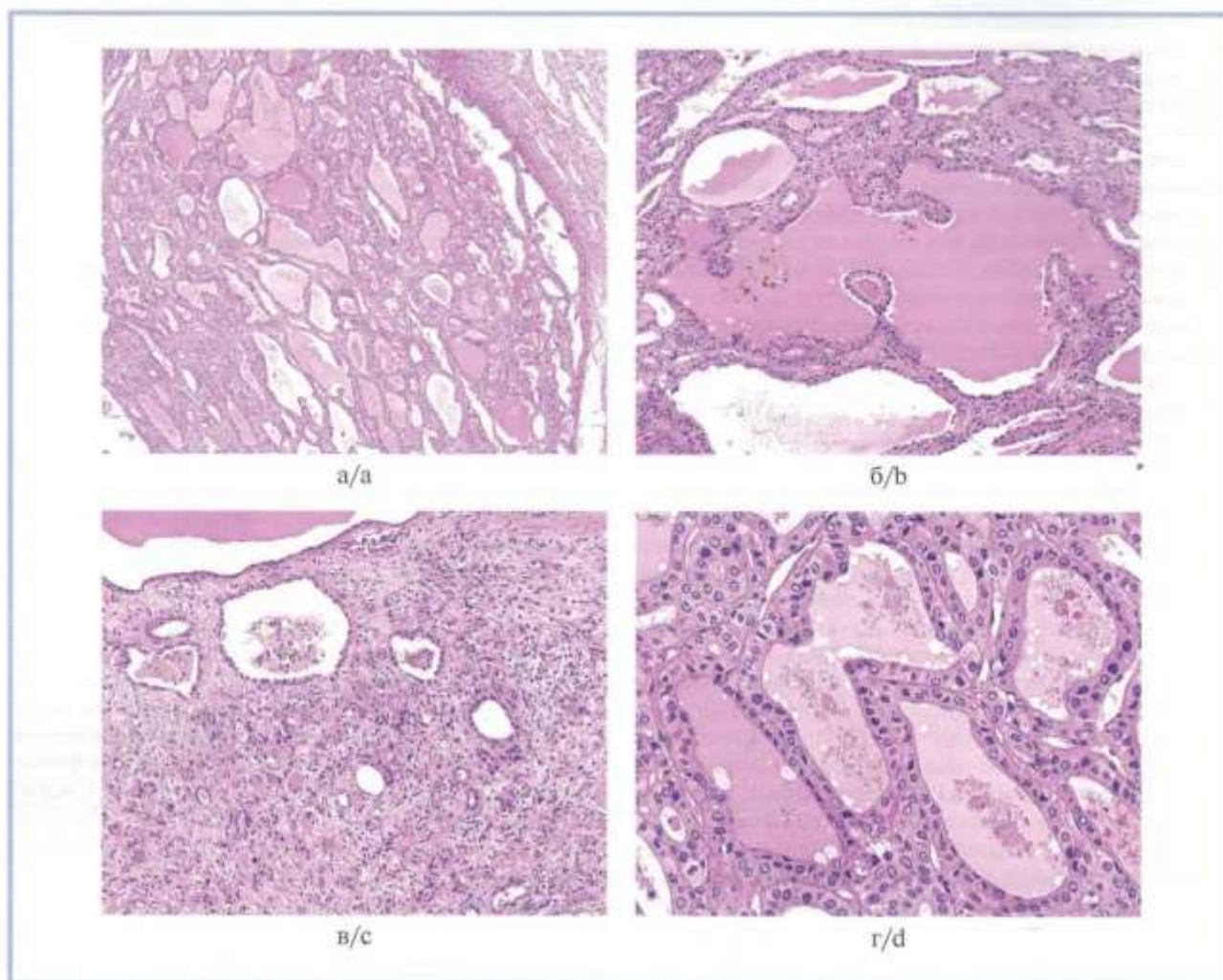


Рис. 3. Гистологическое строение опухоли.

а — клетки опухоли формируют фолликулярные структуры различного размера, заполненные эозинофильным субстратом, $\times 100$; б — зоны папиллярной организации клеток опухоли, $\times 200$; в — участки опухоли с атрофией, $\times 200$; г — опухолевые клетки имеют кубическую форму с округлыми, слегка неправильными ядрами, небольшими базофильными ядрышками и эозинофильной цитоплазмой, $\times 520$. Окраска гематоксилином и эозином.

Fig. 3. The histological structure of the tumor.

а — tumor cells form follicular structures of various sizes filled with an eosinophilic substrate, $\times 100$; б — zones of papillary organization of tumor cells, $\times 200$; в — areas of the tumor with atrophy, $\times 200$; г — tumor cells have a cubic shape, with rounded, slightly irregular nuclei, small basophilic nucleoli and eosinophilic cytoplasm, $\times 520$. H&E.

фолликулы расширены и образуют микрокистозные полости (рис. 2). В кистозно-измененных фолликулах эпителий уплощен. Отмечаются участки склероза стромы, расположенные большей частью по периферии опухоли, в непосредственной близости с капсулой, где определяются скопления гемосидерина, очаговая инфильтрация лимфоцитами, плазматическими клетками и макрофагами со сдавлением фолликулов, расположенных в этой области. Имеются небольшие кровоизлияния в просвет фолликулов с накоплением гемосидерина в цитоплазме эпителиоцитов. На периферии опухоли выявляется толстая фиброзная псевдокапсула с наличием в одном из срезов участка прорастания опухоли через капсулу в окружающую ткань почки (рис. 3).

Иммуногистохимическое исследование было выполнено на платформе Ventana BenchMark ULTRA с системой визуализации ultraVIEW Universal DAB Detection Kit. По резуль-

тату иммуногистохимического исследования клетками опухоли интенсивно диффузно экспрессированы CK7 [SP52], PAX8 [poly], апикально экспрессирован CD10 [SP67], не определялась экспрессия TTF1 [8G7G3/1], Thyroglobulin [2H11+6E1], CK20 [SP33], AMACR [poly], WT1 [6F-H2], CD56 [123C3], Vimentin [V9] при соответствующих внешних и внутренних контрольных реакциях (рис. 4).

По совокупности морфологического и иммуногистохимического исследований с учетом клинических данных был установлен диагноз: «Тиреоидоподобная фолликулярная карцинома почки, pT1a».

Заключение

Злокачественные новообразования почек занимают 15-ю позицию по частоте возникновения в популяции в возрасте от 20 до 85 лет, составляя 7,2 случая на 100 тыс.

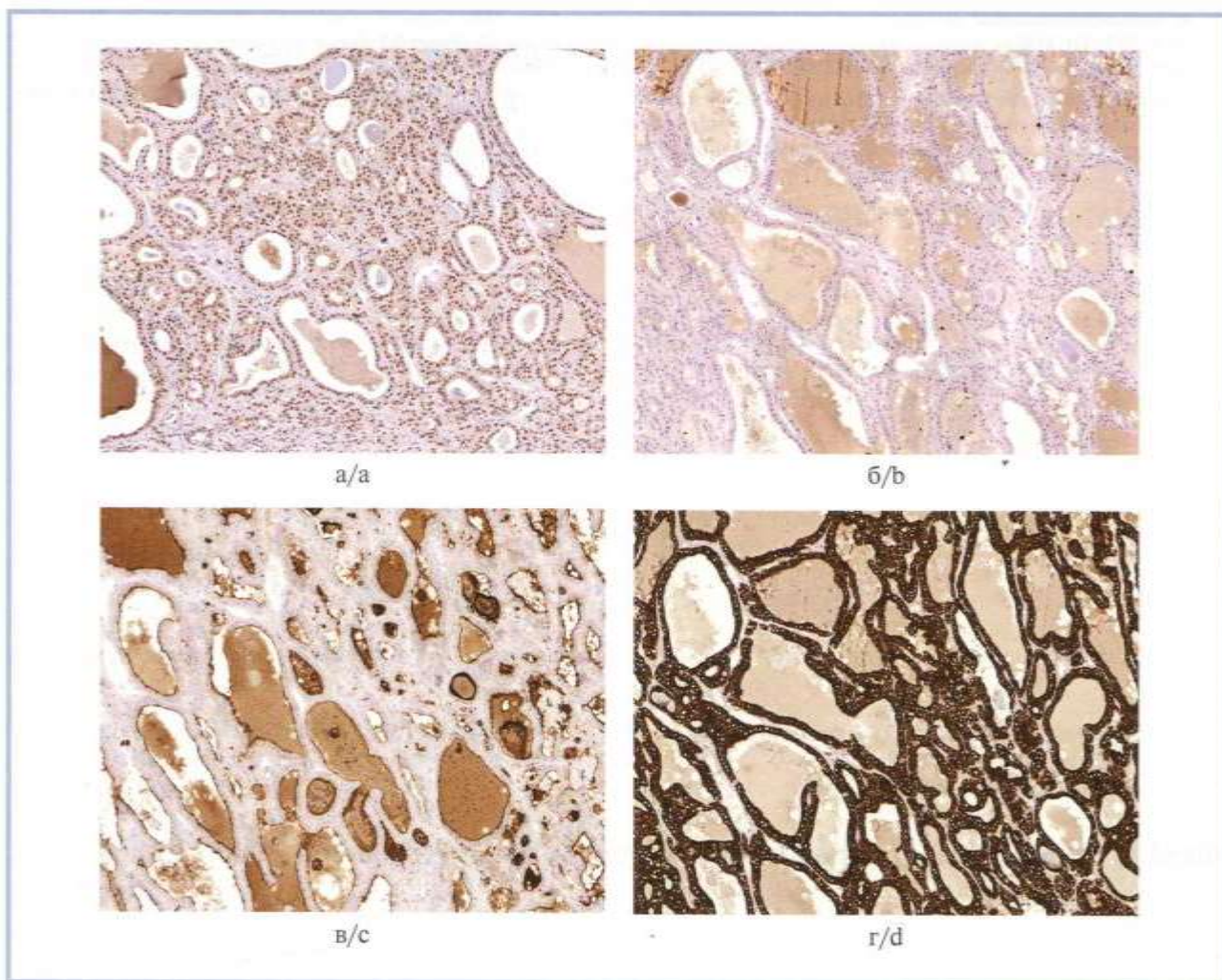


Рис. 4. Результаты иммуногистохимического исследования опухоли.

а — интенсивная ядерная экспрессия PAX8 в клетках опухоли; б — в клетках опухоли отсутствует экспрессия TTF1; в — клетки опухоли апикально экспрессируют CD10; г — интенсивная экспрессия клетками опухоли CK7. Иммуногистохимическая реакция, $\times 200$.

Fig. 4. Results of immunohistochemical analysis of the tumor.

a — intense nuclear expression of PAX8 in tumor cells; б — lack of TTF1 expression by tumor cells; в — apical expression of CD10 by tumor cells; г — intensive expression of CK7 by tumor cells. Immunohistochemical reaction. $\times 200$.

населения. Из 55 случаев, описанных в зарубежной литературе ТПФКП, опухоль чаще диагностировалась у женщин, чем у мужчин (35 (63%) и 20 (37%) соответственно). Как и в описанном наблюдении, опухоли были односторонними. Средний возраст больных составил 42,7 года. Основные затруднения, с которыми может столкнуться патологоанатом при исследовании ТПФКП, обусловлены ее нетипичным гистологическим строением. Субстрат опухоли может напоминать метастазы карциномы щитовидной железы, а также имитировать целый спектр первичных карцином почки и прежде всего папиллярную карциному почки. Установление корректного диагноза

ТПФКП требует комплексного гистологического исследования с применением иммуногистохимического анализа с минимальной панелью антител: CK7, PAX8, CD10, TTF1, Thyroglobulin, CK20, AMACR, WT1, CD56, Vimentin.

Авторский коллектив настоящей публикации привел собственный опыт диагностики этой необычной опухоли почки, ранее не описанной в русскоязычной литературе, что может оказать помощь в практической деятельности врача-патологоанатома.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. World Health Organization. Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th ed. Lyon: IARC; 2016.
2. Jung SJ, Chung JI, Park SH, Ayala AG, Ro JY. Thyroid follicular carcinoma-like tumor of kidney: a case report with morpholog-

- ic, immunohistochemical, and genetic analysis. *Am J Surg Pathol*. 2006;30(3):411-415.
<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000194745.10670.dd>
3. Sterlacci W, Verdorfer I, Gabriel M, Mikuz G. Thyroid follicular carcinoma-like renal tumor: a case report with morphologic, immunophenotypic, cytogenetic, and scintigraphic studies. *Virchows Arch*. 2008;452(1):91-95. Erratum in: *Virchows Arch*. 2008;452(4):471.
<https://doi.org/10.1007/s00428-007-0486-4>
4. Amin MB, Gupta R, Ondrej H, McKenney JK, Michal M, Young AN, Paner GP, Junker K, Epstein JI. Primary thyroid-like follicular carcinoma of the kidney: report of 6 cases of a histologically distinctive adult renal epithelial neoplasm. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(3):393-400.
<https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31818cb8f5>

Поступила 07.02.2022

Received 07.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Значение оценки метилирования ДНК в морфологической диагностике опухолей ЦНС

© М.В. РЫЖОВА, С.А. ГАЛСТЯН, Е.Н. ТЕЛЫШЕВА

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Обзорная статья сосредоточена на относительно новом в онкологии методе исследования — метилировании ДНК. Начавшись от метилирования отдельных генов, метод постепенно расширяется и становится рутинным для изучения глобальной структуры метилирования ДНК (метилом) в опухолях различной локализации. В некоторых опухолях (карциномы молочной и щитовидной желез) изучение глобальной структуры метилирования ДНК только начинается, в то время как для опухолей ЦНС и сарком предложены и успешно используются в Российской Федерации метилиационные классификаторы. В данной работе приведено сопоставление новейшей Классификации ВОЗ опухолей ЦНС 2021 г. и метилиационного классификатора опухолей мозга.

Ключевые слова: метилирование ДНК, опухоли ЦНС, саркомы.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рыжова М.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7206-6365>

Галстян С.А. — <https://orcid.org/0000-0001-9953-6654>

Телышева Е.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-0370-8667>

Автор, ответственный за переписку: Рыжова М.В. — e-mail: mrizhova@nsi.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Рыжова М.В., Галстян С.А., Телышева Е.Н. Значение оценки метилирования ДНК в морфологической диагностике опухолей ЦНС. *Архив патологии*. 2022;84(3):65–75. <https://doi.org/10.17116/patol20228403165>

Significance of DNA methylation assessment in the morphological diagnosis of brain tumours

© M.V. RYZHOVA, S.A. GALSTYAN, E.N. TELYSHEVA

Burdenko Neurosurgical Center, Moscow, Russia

ABSTRACT

The review is focused on a relatively new research method in oncology — DNA methylation. Starting from the methylation of individual genes, the method is gradually expanding and becoming routine for studying the global structure of DNA methylation (methylation) in tumors of various localizations. For some tumors (carcinomas of the mammary and thyroid glands), the study of the global structure of DNA methylation is just beginning, while methylation classifiers have been proposed and successfully used in the Russian Federation for brain tumours and sarcomas. This article compares the fifth edition of the WHO Classification of tumours of the Central Nervous System and the methylation brain classifier.

Keywords: DNA methylation, brain tumours, sarcomas.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Ryzhova M.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7206-6365>

Galstyan S.A. — <https://orcid.org/0000-0001-9953-6654>

Telysheva E.N. — <https://orcid.org/0000-0002-0370-8667>

Corresponding author: Ryzhova M.V. — e-mail: mrizhova@nsi.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Ryzhova MV, Galstyan SA, Telysheva EN. Significance of DNA methylation assessment in the morphological diagnosis of brain tumours. *Archive of Pathology = Arkiv patologii*. 2022;84(3):65–75. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228403165>

Историческая справка

Метилирование ДНК было обнаружено у млекопитающих в 40-х годах XX столетия: в 1948 г. Rollin Hotchkiss [1] при помощи бумажной хроматографии впервые

выявил модифицированный цитозин в препарате тимуса теленка. Он предположил, что данная фракция являлась 5-метилцитозином, так как она была выделена из цитозина тем же способом, что и тимин (метилурацил) из урацила.

Определение и функция

Метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в составе CpG (цитозин-фосфат-гуанин)-динуклеотида в позиции С5 цитозинового кольца. Метилированный цитозин может затем окисляться особыми ферментами, что в итоге приводит к его деметилированию обратно в цитозин.

В геноме млекопитающих метилирование ДНК является эпигенетическим механизмом, т.е. модификация молекулы ДНК происходит без изменения самой нуклеотидной последовательности ДНК.

Метилирование ДНК регулирует экспрессию генов, рекрутируя задействованные белки путем ингибирования связывания факторов транскрипции с ДНК. В процессе развития структура метилирования ДНК в геноме изменяется в результате динамического процесса, включающего как метилирование ДНК *de novo*, так и деметилирование. Как следствие дифференцированные клетки вырабатывают относительно стабильный и динамически изменяемый под действием различных факторов уникальный паттерн метилирования ДНК, который регулирует транскрипцию тканеспецифических генов [2].

Методы выявления

Чаще всего метилирование ДНК определяют с помощью бисульфитного секвенирования.

Бисульфит действует на одноцепочечную ДНК, конвертируя цитозин в CpG-динуклеотиде в урацил. В случае если данный цитозин метилирован, т.е. к его пятому атому углерода присоединена метильная группа, такой цитозин не конвертируется в урацил. Таким образом, бисульфит изменяет последовательность ДНК в зависимости от ее структуры метилирования, и после его воздействия можно установить, какие CpG-динуклеотиды были метилированы, сравнив измененную последовательность с исходной.

Основные методы бисульфитного секвенирования [3–5]

1. Пиросеквенирование

В пиросеквенировании используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с праймерами, амплифицирующими как измененную, так и не измененную бисульфитом ДНК. Соотношение числа метилированных и неметилированных цитозинов в амплифицируемой последовательности определяется по соотношению количества аденина и гуанина в синтезируемой комплементарной последовательности.

2. Метилационно-специфичная полимерная цепная реакция

В этом методе используются праймеры, специфичные или только к преобразованной бисульфитом ДНК, или только к непреобразованной. К первым праймерам прикрепляются только участки, которые были метилированы, а ко вторым, которые неметилированы, что лишает необходимости секвенировать участки после амплификации. В нейроонкологии метилационно-специфичную ПЦР широко применяют для анализа статуса метилирования гена *MGMT* и выявления показаний к проведению химиотерапии темозоломидом.

3. Методы, основанные на микрочипах

Использование ДНК-микрочипов дает возможность расширить описанные выше методы для анализа структуры метилирования на уровне всего генома. Олигонуклео-

тиды ДНК-микрочипа делают специфичными к метилированию и соответствующими интересующим CpG-участкам. Одни комплементарны измененной бисульфитом последовательности (в которой CpG-участок не был метилирован), другие — неизмененной. Примером такого метода служит Illumina methylation assay, который все больше и больше входит в рутинную практику молекулярной диагностики онкологических заболеваний в разных странах.

Факторы, влияющие на метилирование ДНК

Генетические факторы и микроокружение оказывают влияние на статус метилирования ДНК. Структура метилирования ДНК — это непостоянная, динамически изменяющаяся структура в отличие от постоянства самой последовательности ДНК. На статус метилирования могут влиять самые разные внутренние и внешние факторы, с которыми человек сталкивается, начиная с внутриутробного развития [6, 7].

Области применения метилирования ДНК

Оценка биологического возраста

Связь между метилированием ДНК и старением описывается двумя следующими понятиями: «эпигенетический дрейф» и «эпигенетические часы». Эпигенетический дрейф увеличивает индивидуальную вариативность с возрастом под влиянием факторов окружающей среды. В то время как эпигенетические часы наряду с длиной теломер связаны с возрастом людей и могут быть использованы для прогнозирования хронологического возраста. С появлением технологии микрочипов стало доступно больше информации о возрастных маркерах метилирования ДНК. Современная наука работает над созданием моделей прогнозирования возраста, которые смогут измерять биологический возраст, не всегда совпадающий с хронологическим, а также обеспечивать информацией об ожидаемой продолжительности жизни для последующей разработки стандартов и запуска клинических исследований при мониторинге глобального состояния здоровья людей, определять показатели, способные предсказать болезни и замедлить старение [7–9].

Расстройства питания

В то время как состояние питания матери может влиять на эпигенетические программы плода, индивидуальные особенности питания также могут вызывать эпигенетические изменения.

К основным микроэлементам, влияющим на структуру метилирования ДНК, относят фолиевую кислоту, витамин В₁₂, холин и бетаин. Статус фолиевой кислоты и витамина В влияет на метилирование ДНК и функцию головного мозга, приводя к глобальному гиперметилированию клеток мозга [9, 10].

Психические заболевания

Изменение структуры метилирования ДНК, а точнее, глобальное гиперметилирование ДНК играет определенную роль в патогенезе таких психических расстройств, как шизофрения, биполярное расстройство, аутизм, анорексия, булимия и депрессия [6, 9].

Сердечно-сосудистые заболевания

Исследования показывают, что изменения структуры метилирования ряда генов: *CD1D*, *FKBP5*, *NLRP12*, *KLRG1*, *NRC31*, *SLCA4*, *BDNF*, *SKA2*, *OXTR*, *LINGO3*, *POU3F1*, *ITGB1*, связанных со стрессом или воспалением, могут увеличить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний [11, 12].

Судебная медицина

Нуклеиновые кислоты являются основным биологическим источником для идентификации, при этом незначительного количества биологической жидкости достаточно для поиска доказательств на месте преступления. Существуют презумптивные (скрининговые) и подтверждающие (с абсолютной, несомненной идентификацией) тесты.

Метилирование ДНК имеет большой потенциал в судебной медицине, когда обнаружение и идентификация жидкостей организма на месте преступления являются важнейшими аспектами судебно-медицинских расследований и доказательств. Установление идентичности и происхождения жидкости в организме помогает реконструировать место преступления. С точки зрения криминалистики анализ профилей метилирования дает подсказки, касающиеся обстоятельств, ведущих к травме или смерти, а идентификация тканей или жидкостей, из которых взят образец, обеспечивает оценку возраста, пола и фенотипа преступников. Преимущество исследований на основе метилирования ДНК в судебной медицине заключается в оперативности и удобстве, одновременном исследовании нескольких тканей и жидкостей, проверке образцов ДНК, идентификации биологических жидкостей и тканей, определении возраста, пола в связи с болезнями и образом жизни, нахождении отличий между гомозиготными близнецами [9].

Онкология

На сегодняшний день доказано, что метилирование отдельных генов в карциномах легкого, кишечника, молочной и щитовидной желез играет особую роль в патогенезе и может быть использовано для последующей терапии. Генами интереса признаны *ADHFE1*, *BOLL*, *SLC6A15*, *ADAMTS5*, *TFPI2*, *EYA4*, *NPY*, *TWIST1*, *LAMAI*, *GAS7*, *MAEL*, *SFT2D3* [13]. Предложены и одобрены к применению коммерческие наборы для оценки статуса метилирования отдельных генов в рутинной практике: для анализа статуса метилирования гена *SHOX2* в карциноме легкого и гена *SEPT9* в колоректальной карциноме широко используются наборы Epi prolong (Epigenomics AG), для генов *NDRG4* и *BMP3* в колоректальной карциноме применяют Cologuard (Exact Sciences), также используются и хорошо себя зарекомендовали наборы российского производства для метилирования *MGMT* от Еврогена.

Кодирующие ДНК метилирование ДНК-метилтрансферазы могут выступать в качестве потенциальных мишеней для терапии злокачественных опухолей [13–15].

В последнее время в литературе начинают появляться данные об особенностях глобальной структуры метилирования ДНК (метилом) в опухолях молочной и щитовидной желез. Публикуют подобные исследования научные коллективы, занимающиеся изучением метилирования ДНК на чипах. Согласно профилю метилирования ДНК и последующему кластерному анализу, опухоли стратифицируются по диагностическим и прогностическим группам

с выделением так называемой DDms (Diagnostic DNA methylation signature) [16, 17].

Нейроонкология

Опухолям ЦНС и детским мягкотканым опухолям в плане метилирования ДНК «повезло» гораздо больше, чем опухолям других локализаций. Группа морфологов, биологов, биостатистиков и онкологов из Хайдельберга, начиная с 2010-х годов, изучала особенности метилирования ДНК опухолей ЦНС и детских сарком и создала периодически обновляемые метилиационные классификаторы, доступные по ссылке <https://www.molecularneuropathology.org/mnp> [18].

Пристально изучались медуллобластомы, эпендимомы и пилоидные астроцитомы различной локализации, глиобластомы, эмбриональные опухоли, различные саркомы. Выявлены молекулярные группы вышеописанных опухолей, проведены морфологический и клинический сравнительно сопоставительный анализы, найдены диагностические, прогностические и таргетные маркеры опухолей ЦНС и сарком [19–44].

Данные о структуре метилирования ДНК интегрировались с таковыми о мутациях и слияниях генов, создавались и обновлялись электронные классификаторы опухолей, были предложены основанные на метилировании ДНК классификации опухолей ЦНС [5] и детских сарком [43], показано клиническое применение при диагностике классификатора опухолей ЦНС [45]. В 2021 г. классификация опухолей ЦНС на основе метилирования ДНК и 5-е издание Классификации ВОЗ опухолей ЦНС [46] приведены в полное соответствие (таблица).

Предложен основанный на гистологической картине и метилировании ДНК алгоритм диагностики опухолей ЦНС и сарком, дискутируется создание новой профессии молекулярного патолога с компетенциями морфолога и биолога [47].

Изучение метилирования ДНК с применением набора Illumina Infinium Methylation EPIC BeadChip kit на приборе Illumina NextSeq 550 постепенно становится в Российской Федерации рутинным исследованием. Анализ обезличенных результатов бесплатно и легально доступен на платформе <https://www.molecularneuropathology.org/mnp> с использованием версии v11b4 или последней обновленной 15 августа 2021 г. версии v12.3 классификатора опухолей мозга.

Также на платформе <https://www.molecularneuropathology.org/mnp> доступен классификатор сарком, объединяющий не только злокачественные опухоли мягких тканей, но и доброкачественные мезенхимальные опухолевые и опухолеподобные образования.

Оба классификатора являются отличными помощниками в молекулярной диагностике опухолей ЦНС и сарком, позволяют определить метилиационный класс опухоли, количественные изменения на хромосомах и в некоторых случаях информируют о наличии ключевой повторяющейся мутации.

Использование метилиационного анализа при детских злокачественных супратенториальных опухолях ЦНС рекомендовано экспертами Классификации ВОЗ как метод выбора диагностики. Метилирование ДНК способно заменить методы иммуногистохимического исследования и флуоресцентной гибридизации *in situ*.

Сопоставление 5-го издания Классификации ВОЗ опухолей ЦНС и метилиационной классификации опухолей мозга для планируемых к изучению глиом, менингиом и метастатических опухолей приведено в таблице.

Сопоставление 5-го издания Классификации ВОЗ опухолей ЦНС и метилиционной классификации опухолей мозга
Comparison of the 5th edition of the WHO Classification of CNS Tumors and the Methylation Brain Classifier

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]		Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
Глиомы, глионейрональные опухоли и нейрональные опухоли:		
Диффузные глиомы взрослого типа	Астроцитома, IDH-мутантная	1. Диффузная глиома высокой степени злокачественности, IDH-мутантная, без делеции 1p19q. 2. Диффузная глиома низкой степени злокачественности, IDH-мутантная, без делеции 1p19q. 3. IDH-мутантная астроцитома с первичным нарушением/дефицитом репарации несоответствия Диффузная глиома, IDH-мутантная, с коделецией 1p19q
	Олигодендроглиома, IDH-мутантная и с коделецией 1p/19q	
	Глиобластома, IDH-дикий тип	1. Глиобластома задней черепной ямки, H3 и IDH-дикий тип. 2. Глиобластома с высоким содержанием инфильтрирующих иммунных клеток. 3. Глиобластома, мезенхимальный подтип. 4. Глиобластома, подтип RTK1. 5. Глиобластома, подтип RTK2. 6. Глиобластома с примитивным нейрональным компонентом
Диффузные глиомы низкой степени злокачественности детского типа	Диффузная астроцитома, с нарушением MYB или MYBL1	1. Глиома низкой степени злокачественности, семейство MYB(L1), подтип В инфратенториальный. 2. Глиома низкой степени злокачественности, семейство MYB(L1), подтип С изоморфный. 3. Глиома низкой степени злокачественности, семейство MYB(L1), подтип D неопределенный тип
	Ангиоцентрическая глиома	Глиома низкой степени злокачественности, семейство MYB(L1), подтип А ангиоцентрический
	Полиморфная нейроэпителиальная опухоль низкой степени злокачественности у молодых	Плеоморфная нейроэпителиальная опухоль низкой степени злокачественности у молодых
	Диффузная глиома низкой степени злокачественности, с повреждением MAPK-сигнального пути	Нет аналога
Диффузные глиомы высокой степени злокачественности детского типа	Диффузная срединная глиома с нарушением H3 K27	Диффузная срединная глиома с гиперэкспрессией гистона 3 K27/EZH1P
	Диффузная полушарная глиома, H3 G34-мутантная	Глиобластома, гистон 3 G34-мутантная
	Диффузная глиома высокой степени злокачественности детского типа, H3-дикий тип и IDH- дикий тип	1. Глиобластома детского типа, подтип MYCN. 2. Глиобластома детского типа RTK1 тип, подтип А. 3. Глиобластома детского типа RTK1 тип, подтип В. 4. Глиобластома детского типа RTK1 тип, подтип С. 5. Глиобластома детского типа RTK2 тип, подтип А. 6. Глиобластома детского типа RTK2 тип, подтип В. 7. Глиобластома детского типа без уточнения, подтип А. 8. Глиобластома детского типа без уточнения, подтип В
	Полушарная глиома младенческого типа	Полушарная глиома младенческого типа, H3-дикий тип
Ограниченные астроцитарные глиомы	Пилоцитарная астроцитома	1. Глиома низкой степени злокачественности, подтип пилоцитарной астроцитомы, полушарная супратенториальная пилоцитарная астроцитома. 2. Глиома низкой степени злокачественности, подтип пилоцитарной астроцитомы, инфратенториальная пилоцитарная астроцитома. 3. Глиома низкой степени злокачественности, подтип пилоцитарной астроцитомы, инфратенториальная пилоцитарная астроцитома с нарушением FGFR1. 4. Глиома низкой степени злокачественности, подтип пилоцитарной астроцитомы, срединная супратенториальная пилоцитарная астроцитома
	Астроцитома высокой степени злокачественности с пилоидными особенностями	Анапластическая астроцитома с пилоидными особенностями

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]		Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
Глионеурональные и нейрональные опухоли	Плеоморфная ксантоастроцитома	(Анапластическая) Плеоморфная ксантоастроцитома
	Субэпендимарная гигантоклеточная астроцитома	Субэпендимарная гигантоклеточная астроцитома
	Хордоидная глиома	Хордоидная глиома III желудочка
	Астроцитома с нарушением MN1	1. Нейроэпителиальная опухоль высокой степени злокачественности со слиянием CXXC5:MN1. 2. Нейроэпителиальная опухоль высокой степени злокачественности со слиянием BEND2:MN1
	Ганглиоглиома	Ганглиоглиома
	Десмопластическая инфантильная ганглиоглиома/ десмопластическая инфантильная астроцитома	Десмопластическая инфантильная астроцитома/ганглиоглиома *
	Дизэмбриопластическая нейроэпителиальная опухоль	Дизэмбриопластическая нейроэпителиальная опухоль
	Диффузная глионеурональная опухоль с олигодендроглиома-подобными особенностями и ядерными кластерами	Диффузная глиома с олигодендроглиома-подобными особенностями и ядерными кластерами
	Папиллярная глионеурональная опухоль	Папиллярная глионеурональная опухоль
	Розеткоформирующая глионеурональная опухоль	Розеткоформирующая глионеурональная опухоль
	Миксоидная глионеурональная опухоль	Миксоидная глионеурональная опухоль III желудочка/прозрачной перегородки
	Диффузная лептоменингеальная глионеурональная опухоль	1. Диффузная лептоменингеальная глионеурональная опухоль, подтип 1. 2. Диффузная лептоменингеальная глионеурональная опухоль, подтип 2
	Ганглиоцитома	Нет аналога
	Многоузловая и вакуолизирующая нейрональная опухоль	» »
	Диспластическая мозжечковая ганглиоцитома (болезнь Лермитта—Дюкло)	» »
	Центральная нейроцитома	Центральная нейроцитома
	Экстравентрикулярная нейроцитома	Экстравентрикулярная нейроцитома
Эпендимарные опухоли	Липоэпендимарная опухоль мозжечка	Липоэпендимарная опухоль мозжечка
	Супратенториальная эпендимома	Супратенториальная эпендимома, подтип А
	Супратенториальная эпендимома со слиянием ZFTA	1. Супратенториальная эпендимома, подтип c11orf95:RELA-подобная, подкласс А. 2. Супратенториальная эпендимома, подтип c11orf95:RELA-подобная, подкласс В. 3. Супратенториальная эпендимома, подтип c11orf95:RELA-подобная, подкласс С. 4. Супратенториальная эпендимома, подтип со слиянием c11orf95:RELA, подкласс А. 5. Супратенториальная эпендимома, подтип со слиянием c11orf95:RELA, подкласс В
	Супратенториальная эпендимома, со слиянием YAP1	Супратенториальная эпендимома со слиянием YAP1
	Эпендимома задней черепной ямки	—

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]		Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
	Эпендимома задней черепной ямки, группа PFA	1. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1a. 2. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1b. 3. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1c. 4. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1d. 5. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1e. 6. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 1f. 7. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 2a. 8. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 2b. 9. Эпендимома задней черепной ямки, подтип А, подкласс 2c
	Эпендимома задней черепной ямки, группа PFB	1. Эпендимома задней черепной ямки, подтип В, подкласс 1. 2. Эпендимома задней черепной ямки, подтип В, подкласс 2. 3. Эпендимома задней черепной ямки, подтип В, подкласс 3. 4. Эпендимома задней черепной ямки, подтип В, подкласс 4. 5. Эпендимома задней черепной ямки, подтип В, подкласс 5
	Спинальная эпендимома	Спинальная эпендимома
	Спинальная эпендимома, MYCN-амплифицированная	Спинальная эпендимома с MYCN амплификацией
	Миксопапиллярная эпендимома	Миксопапиллярная эпендимома
	Субэпендимома	1. Супратенториальная субэпендимома. 2. Субэпендимома задней черепной ямки. 3. Спинальная субэпендимома, подтип В. 4. Спинальная субэпендимома, подтип А
	Опухоли сосудистого сплетения	
	Папиллома сосудистого сплетения	1. Опухоль сосудистого сплетения, подтип взрослых А (папиллома сосудистого сплетения А взрослый тип). 2. Опухоль сосудистого сплетения, подтип детский А (папиллома сосудистого сплетения А инфантильный тип)
	Атипическая папиллома сосудистого сплетения	Нет аналога
	Карцинома сосудистого сплетения	1. Опухоль сосудистого сплетения, подтип детский В. 2. Опухоль сосудистого сплетения, подтип взрослых В
	Эмбриональные опухоли:	
Медуллобластомы, генетически идентифицированные	Медуллобластома, WNT-активированная	Медуллобластома, WNT-подтип
	Медуллобластома, SHH-активированная и TP53-дикий тип	1. Медуллобластома, SHH-подтип, подкласс 1 детский/взрослый тип. 2. Медуллобластома, SHH-подтип, подкласс 2 детский/взрослый тип. 3. Медуллобластома, SHH-подтип, подкласс 3 детский/взрослый тип. 4. Медуллобластома, SHH-подтип, подкласс 4 детский/взрослый тип. 5. Медуллобластома, SHH подтип, IDH-мутантная
	Медуллобластома, SHH-активированная и TP53-мутантная	—
	Медуллобластома, ни-WNT/ни-SHH	1. Медуллобластома, группа 3, подкласс I. 2. Медуллобластома, группа 3, подкласс II. 3. Медуллобластома, группа 3, подкласс III. 4. Медуллобластома, группа 3, подкласс IV. 5. Медуллобластома, группа 4, подкласс V. 6. Медуллобластома, группа 4, подкласс VI. 7. Медуллобластома, группа 4, подкласс VII. 8. Медуллобластома, группа 4, подкласс VIII. 9. Медулломиобластома
	—	—
Медуллобластомы, гистологически идентифицированные	—	—
Другие эмбриональные опухоли ЦНС	Атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль	1. Атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль, MYC-подтип. 2. Атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль SHH-подтип. 3. Атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль, TYR-подтип
	Решетчатая нейроэпителиальная опухоль	Решетчатая нейроэпителиальная опухоль

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]		Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
Эмбриональная опухоль с многоядными розетками		1. Эмбриональная опухоль с многоядными розетками, C19MC- амплифицированная. 2. Эмбриональная опухоль с многоядными розетками, амплификации C19MC, ETMR-подобная
Нейробластома ЦНС, FOXR2-активированная		Нейробластома ЦНС с нарушением FOXR2
Опухоль ЦНС с внутренним тандемным удвоением BCOR		1. Нейроэпителиальная опухоль со слиянием EP300:BCOR(L1). 2. Нейроэпителиальная опухоль с внутренним тандемным удвоением BCOR
Эмбриональная опухоль ЦНС неклассифицируемая/ без дополнительного уточнения		Эмбриональная опухоль ЦНС без спецификации
Опухоли пинеальной железы:		
Пинеоцитома		Пинеоцитома
Опухоль паренхимы пинеальной железы промежуточной дифференцировки		1. Опухоль паренхимы пинеальной железы промежуточной дифференцировки, подтип А. 2. Опухоль паренхимы пинеальной железы промежуточной дифференцировки, подтип В
Пинеобластома		1. Пинеобластома, подтип 1А. 2. Пинеобластома, подтип 1В. 3. Пинеобластома, подтип 2. 4. Пинеобластома, подтип MYC/FOXR2-активированная 5. Пинеальная ретинобластома
Папиллярная опухоль пинеальной области		1. Папиллярная опухоль пинеальной области, подтип А. 2. Папиллярная опухоль пинеальной области, подтип В
Десмопластическая миксоидная опухоль пинеальной области, SMARCB1-мутантная		Десмопластическая миксоидная опухоль с нарушением SMARCB1
Опухоли краниальных и параспинальных нервов:		
Шваннома		Шваннома
Нейрофиброма		<i>В классификаторе опухолей мозга отсутствует, но «метилиционный класс семейства «нейрофиброма» имеется в саркомном классификаторе</i>
Периневриома		Нет аналога
Гибридная опухоль оболочек нерва		» »
Злокачественная меланотическая опухоль оболочек нерва		Злокачественная меланотическая опухоль оболочек нерва
Злокачественная опухоль оболочек периферического нерва		1. Злокачественная опухоль оболочек периферического нерва (типичный тип). 2. Саркома, ЗООПН-подобная (спинальный или атипичный тип)
Нейроэндокринная опухоль конского хвоста (ранее паранглиома)		Параганглиома
Менингиомы:		
Менингиома		1. Менингиома, подтип доброкачественная, подкласс 1. 2. Менингиома, подтип доброкачественная, подкласс 2. 3. Менингиома, подтип доброкачественная, подкласс 3. 4. Менингиома светлоклеточная, подтип с повреждением SMARCE1. 5. Менингиома, подтип промежуточная, подкласс А. 6. Менингиома, подтип промежуточная, подкласс В. 7. Менингиома, подтип злокачественная
Мезенхимальные, неменингеальные опухоли, затрагивающие ЦНС:		
<i>Опухоли мягких тканей</i>		
Фибробластические и миофибробластические опухоли	Солитарная фиброзная опухоль	Солитарная фиброзная опухоль/гемангиоперицитомы
Сосудистые опухоли	Гемангиомы и сосудистые мальформации	Нет аналога
	Гемангиобластома	Гемангиобластома
Опухоли скелетных мышц	Рабдомиосаркома	Эмбриональная рабдомиосаркома
Опухоли неопределенной дифференцировки	Интракраниальная мезенхимальная опухоль со слиянием FET-CREB	Нет аналога

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]	Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
Саркома с реаранжировкой CIC	Опухоль семейства Юинга с нарушением CIC
Первичная интракраниальная саркома, DICER1-мутантная	ЦНС DICER1-ассоциированная саркома
Саркома Юинга	Саркома Юинга
<i>Опухоли хрящевой и костной ткани:</i>	
Хондрогенные опухоли	Мезенхимальная хондросаркома В классификаторе опухолей мозга отсутствует, но имеется в саркомном классификаторе. Метилиционный класс хондросаркома (мезенхимальная) Хондросаркома В классификаторе опухолей мозга отсутствует, но имеется в саркомном классификаторе. 1. Метилиционный класс хондросаркома (группа A), 2. Метилиционный класс хондросаркома (группа B), 3. Метилиционный класс хондросаркома (светлоклеточная), 4. Метилиционный класс хондросаркома (IDH группа A), 5. Метилиционный класс хондросаркома (IDH группа B)
Нотохордальные опухоли	Хордома
Меланоцитарные опухоли:	
Диффузные менингеальные меланоцитарные опухоли	Меланоцитоз и меланоматоз
Отграниченные менингеальные меланоцитарные опухоли	Меланоцитомы и меланомы
Гематолимфоидные опухоли, затрагивающие ЦНС:	
<i>Лимфомы:</i>	
Первичная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома ЦНС	Первичная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома ЦНС
Лимфома ЦНС, ассоциированная с иммунодефицитами	Нет аналога
Лимфоматозный гранулематоз	*
Внутрисосудистая крупноклеточная В-клеточная лимфома	*
MALT лимфома твердой мозговой оболочки	*
Другие В-клеточные лимфомы ЦНС низкой степени злокачественности	*
Анапластическая крупноклеточная лимфома (ALK+/ALK-)	*
Т-клеточная и NK/Т-клеточные лимфомы	*
Гистиоцитарные опухоли:	
Болезнь Erdheim—Chester	*
Болезнь Rosai—Dorfman	*
Ювенильная ксантогранулема	*
Гистиоцитоз из клеток Лангерганса	Гистиоцитоз из клеток Лангерганса
Гистиоцитарная саркома	Нет аналога
Герминативно-клеточные опухоли:	
Зрелая тератома	Тератома
Незрелая тератома	Нет аналога
Тератома, в структуре которой имеется злокачественная опухоль соматического типа	*
Герминома	1. Герминома, тип А, не связанная с KIT. 2. Герминома, тип В, связанная с KIT (KIT-мутантная)
Эмбриональная карцинома	Нет аналога
Опухоль желточного мешка	Опухоль желточного мешка

2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (CNS), fifth edition [46]	Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier [18]
Хориокарцинома	Нет аналога
Смешанная герминативно-клеточная опухоль	*
Опухоли области турецкого седла:	
Адамантиномоподобная краниофарингиома	Адамантиномоподобная краниофарингиома
Папиллярная краниофарингиома	Папиллярная краниофарингиома
Питуицинома, гранулярноклеточная опухоль области турецкого седла и веретеноклеточная онкоцинома	Питуицинома (включая гранулярноклеточную опухоль и веретеноклеточную онкоцитому)
Питуитарная аденома/PitNET (питуитарная нейроэндокринная опухоль)	1. Питуитарная аденома, АКТГ-продуцирующая. 2. Питуитарная аденома, гонадотрофинпродуцирующая. 3. Питуитарная аденома, пролактинпродуцирующая. 4. Питуитарная аденома, СТГ-продуцирующая, подкласс с плотными гранулами А. 5. Питуитарная аденома, СТГ-продуцирующая, подкласс с плотными гранулами В. 6. Питуитарная аденома, ТСТГ-продуцирующая
Питуитарная бластома	Нет аналога
Метастатические опухоли ЦНС:	
Метастазы в паренхиме головного и спинного мозга	Метастатическая меланома
Метастазы в оболочки	Нет аналога

Перечень нозологических единиц, выделяемых классификатором сарком на платформе

<https://www.molecularneuropathology.org/mnp>

1. Ангиолейомиома/миоперицитома.
2. Ангиосаркома.
3. Воспалительная миофибробластная опухоль.
4. Гастроинтестинальная стромальная опухоль.
5. Гемангиоэндотелиома эпителиоидная.
6. Гигантоклеточная опухоль кости.
7. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса.
8. Дерматофибросаркома выбухающая protuberance.
9. Десмопластическая мелкокруглоклеточная опухоль.
10. Злокачественная рабдоидная опухоль.
11. Злокачественная опухоль оболочек периферических нервов.
12. Карцинома плоскоклеточная кожи.
13. Лейомиома.
14. Лейомиосаркома.
15. Липома.
16. Липосаркома высокодифференцированная/дифференцированная.
17. Липосаркома миксоидная.
18. Меланома кожи.
19. Мелкокруглоклеточная синеклеточная опухоль с изменением BCOR.
20. Мелкокруглоклеточная синеклеточная опухоль с изменением CIC.
21. Миозит оссифицирующий.
22. Миозит пролиферирующий.
23. Нейрофиброма.
24. Нейрофиброма плексиформная.
25. Остеобластома.
26. Остеосаркома высокой степени.
27. Рабдомиосаркома альвеолярная.
28. Рабдомиосаркома эмбриональная.
29. Рабдомиосаркома MYOD1.
30. Саркома РМС-подобная.
31. Саркома ЗООРН-подобная.
32. Саркома Капоши.
33. Саркома мягких тканей альвеолярная.
34. Саркома мягких тканей светлоклеточная.
35. Саркома недифференцированная.
36. Саркома почки светлоклеточная.
37. Саркома с нарушениями BCOR.
38. Саркома синовиальная.
39. Саркома фибромиксоидная низкой степени злокачественности.
40. Саркома эпителиоидная.
41. Саркома Юинга.
42. Солитарная фиброзная опухоль.
43. Фасциит узелковый нодулярный.
44. Фиброзная гистиоцитома ангиоматоидная.
45. Фиброзная дисплазия.
46. Фибросантома атипичная /плеоморфная дермальная саркома.
47. Фиброматоз десмоидного типа.
48. Фибромиксоидная оссифицирующая опухоль.
49. Фибросаркома инфантильная.
50. Фибросаркома склерозирующая эпителиоидная.
51. Хондробластома.
52. Хондросаркома.
53. Хондросаркома, группа А.
54. Хондросаркома, группа В.
55. Хондросаркома внескелетная миксоидная.
56. Хондросаркома мезенхимальная.
57. Хондросаркома светлоклеточная.
58. Хондросаркома IDH, группа А.

59. Хондросаркома IDH, группа В.
60. Хордома.
61. Хордома дедифференцированная.
62. Шваннома.
63. Эндометриальная стромальная саркома высокой степени злокачественности.

64. Эндометриальная стромальная саркома низкой степени злокачественности.

Работа поддержана Грантом Минобрнауки РФ (номер соглашения 075-15-2021-1343).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hotchkiss RD. The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography. *J Biol Chem.* 1948; 175:315-332.
2. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology.* 2013;38(1):23-38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
3. El-Maarri O. Methods: DNA methylation. *Adv Exp Med Biol.* 2003; 544:197-204. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9072-3_23
4. Shena L, Waterland RA. Methods of DNA methylation analysis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10(5):576-581. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282bf6f43>
5. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, Koelsche C, Sahm F, Chavez L, Reuss DE, Kratz A, Wefers AK, Huang K, Pajtler KW, Schweizer L, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature.* 2018;555(7697):469-474. <https://doi.org/10.1038/nature26000>
6. Liu C, Jiao C, Wang K, Yuan N. DNA methylation and psychiatric disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2018;157:175-232. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2018.01.006>
7. Jung SE, Shin KJ, Lee HY. DNA methylation-based age prediction from various tissues and body fluids. *BMB Rep.* 2017;50(11): 546-553. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2017.50.11.175>
8. Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet.* 2018;19(6):371-384. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0004-3>
9. Kader F, Ghai M. DNA methylation and application in forensic sciences. *Forensic Sci Int.* 2015;249:255-265. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.01.037>
10. Thaler L, Steiger H. Eating disorders and epigenetics. *Adv Exp Med Biol.* 2017;978:93-103. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53889-1_5
11. Giurgescu C, Nowak AL, Shannon G, Nolan TS, Anderson CM, Ford JL, Hood DB, Williams KP. Neighborhood environment and DNA methylation: implications for cardiovascular disease risk. *J Urban Health.* 2019;96(suppl 1):23-34. <https://doi.org/10.1007/s11524-018-00341-1>
12. Park C, Rosenblatt JD, Brietzke E, Pan Z, Lee Y, Cao B, Zuckerman H, Kalantarova A, McIntyre RS. Stress, epigenetics and depression: a systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2019;102:139-152. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.010>
13. Pan Y, Liu G, Zhou F, Su B, Li Y. DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics. *Clin Exp Med.* 2018;18(1):1-14. <https://doi.org/10.1007/s10238-017-0467-0>
14. Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell.* 2012;150:12-27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.013>
15. Lam K, Pan K, Linnekamp J, Medema JP, Kandimalla R. DNA methylation based biomarkers in colorectal cancer: a systematic review. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1866(1):106-120. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.07.001>
16. Zhang S, Wang Y, Gu Y, Zhu J, Ci C, Guo Z, Chen C, Wei Y, Lv W, Liu H, Zhang D, Zhang Y. Specific breast cancer prognosis-subtype distinctions based on DNA methylation patterns. *Mol Oncol.* 2018;12(7):1047-1060. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12309>
17. Zafon C, Gil J, Pérez-González B, Jordà M. DNA methylation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2019;26(7):415-439. <https://doi.org/10.1530/ERC-19-0093>
18. Brain classifier Version 12.3 of the Brain classifier. Updated 2021-08-15 T09:30:03.000000Z. <https://www.molecularneuropathology.org/mnp>
19. Remke M, Hielscher T, Northcott PA, Witt H, Ryzhova M, Wittmann A, Benner A, von Deimling A, Scheurle W, Perry A, Croul S, Kulozik AE, Lichter P, Taylor MD, Pfister SM, Korshunov A. Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants. *J Clin Oncol.* 2011;29(19):2717-2723. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.34.9373>
20. Witt H, Mack SC, Ryzhova M, Bender S, Sill M, Isserlin R, Benner A, Hielscher T, Milde T, Remke M, Jones DT, Northcott PA, Garzia L, Bertrand KC, Wittmann A, et al. Delineation of two clinically and molecularly distinct subgroups of posterior fossa ependymoma. *Cancer Cell.* 2011;20(2):143-157. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.07.007>
21. Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DTW, Pfaff E, Jacob K, Sturm D, Fontebasso DAM, Quang DAK, Tönjes M, Hovestadt V, Albrecht S, Kool M, Nante A, Konermann C, et al. A. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature.* 2012;482(7384):226-232. <https://doi.org/10.1038/nature10833>
22. Jones DTW, Jager N, Kool M, Zichner T, Hutter B, Sultan M, Cho YJ, Pugh TJ, Hovestadt V, Stutz AM, Rausch T, Warnatz HJ, Ryzhova M, Bender S, Sturm D, et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. *Nature.* 2012;488(7409):100-105. <https://doi.org/10.1038/nature11284>
23. Sturm D, Witt H, Hovestadt V, Khuong-Quang DA, Jones DT, Konermann C, Pfaff E, Tönjes M, Sill M, Bender S, Kool M, Zaplatka M, Becker N, Zucknick M, Hielscher T, et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell.* 2012;22(4):425-437. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.08.024>
24. Lambert SR, Witt H, Hovestadt V, Zucknick M, Kool M, Pearson DM, Korshunov A, Ryzhova M, Ichimura K, Jabado N, Fontebasso AM, Lichter P, Pfister SM, Collins VP, Jones DTW. Differential expression and methylation of brain developmental genes define location specific subsets of pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* 2013;126(2):291-301. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1124-7>
25. Ramaswamy V, Remke M, Bouffet E, Faria CC, Perreault S, Cho YJ, Shih DJ, Luu B, Dubuc AM, Northcott PA, Schüller U, Gururangan S, McLendon R, Bigner D, et al. Recurrence patterns across medulloblastoma subgroups: an integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol.* 2013;14(12):1200-1207. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70449-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70449-2)
26. Bender S, Tang Y, Lindroth AM, Hovestadt V, Jones DT, Kool M, Zaplatka M, Northcott PA, Sturm D, Wang W, Radlwimmer B, Hoffeldt JW, Truffaux N, Castel D, Schubert S, et al. Reduced H3K27me3 and DNA hypomethylation are major drivers of gene expression in K27M mutant pediatric high-grade gliomas. *Cancer Cell.* 2013;24(5):660-672. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.10.006>

27. Mack SC, Witt H, Piro RM, Gu L, Zuyderduyn S, Stütz AM, Wang X, Gallo M, Garzia L, Zayne K, Zhang X, Ramaswamy V, Jäger N, Jones DT, Sill M, et al. Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature*. 2014; 506(7489):445-450. <https://doi.org/10.1038/nature13108>
28. Kool M, Jones DT, Jäger N, Northcott PA, Pugh TJ, Hovestadt V, Piro RM, Esparza LA, Markant SL, Remke M, Milde T, Bourdeaut F, Ryzhova M, Sturm D, Pfaff E, et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothened inhibition. *Cancer Cell*. 2014;25(3):393-405. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.02.004>
29. Hovestadt V, Jones DTW, Picelli S, Wang W, Kool M, Northcott PA, Sultan M, Stachurski K, Ryzhova M, Warnatz HJ, Ralser M, Brun S, Bunt J, Jäger N, Kleinheinz K, et al. Decoding the regulatory landscape of medulloblastoma using DNA methylation sequencing. *Nature*. 2014;510(7506):537-541. <https://doi.org/10.1038/nature13268>
30. Korshunov A, Ryzhova M, Hovestadt V, Bender S, Sturm D, Capper D, Meyer J, Schrimpf D, Kool M, Northcott PA, Zheludkova O, Milde T, Witt O, Kulozik AE, Reifenberger G, et al. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. *Acta Neuropathol*. 2015;129(5):669-678. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1405-4>
31. Pajtler KW, Witt H, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Kratochwil F, Wani K, Tatevossian R, Punchihewa C, Johann P, Reimand J, Warnatz HJ, Ryzhova M, Mack S, Ramaswamy V, et al. Molecular classification of ependymal tumors across all CNS compartments, histopathological grades, and age groups. *Cancer Cell*. 2015; 27(5):728-743. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.04.002>
32. Korshunov A, Witt H, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Kratochwil F, Wani K, Tatevossian R, Punchihewa C, Johann P, Reimand J, Warnatz HJ, Ryzhova M, Mack S, Ramaswamy V, et al. Comparative integrated molecular analysis of intraocular medulloepitheliomas and central nervous system embryonal tumors with multi-layered rosettes confirms that they are distinct nosologic entities. *Neuropathology*. 2015;35(6):538-544. <https://doi.org/10.1111/neup.12227>
33. Korshunov A, Capper D, Reuss D, Schrimpf D, Ryzhova M, Hovestadt V, Sturm D, Meyer J, Jones C, Zheludkova O, Kumirova E, Golanov A, Kool M, Schüller U, Mittelbronn M, et al. Histologically distinct neuroepithelial tumors with histone 3 G34 mutation are molecularly similar and comprise a single nosologic entity. *Acta Neuropathol*. 2016;131(1):137-146. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1493-1>
34. Sturm D, Orr BA, Toprak UH, Hovestadt V, Jones DT, Capper D, Sill M, Buchhalter I, Northcott PA, Leis I, Ryzhova M, Koelsche C, Pfaff E, Allen SJ, Balasubramanian G, et al. New brain tumor entities emerge from molecular classification of CNS-PNETs. *Cell*. 2016;164(5):1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.015>
35. Johann PD, Erkek S, Zapotnik M, Kerl K, Buchhalter I, Hovestadt V, Jones DT, Sturm D, Hermann C, Segura Wang M, Korshunov A, Ryzhova M, Gröbner S, Brabetz S, Chavez L, et al. Atypical teratoid/rhabdoid tumors are comprised of three epigenetic subgroups with distinct enhancer landscapes. *Cancer Cell*. 2016;29(3):379-393. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.02.001>
36. Johann PD, Hovestadt V, Thomas C, Jeibmann A, Heß K, Bens S, Oyen F, Hawkins C, Pierson CR, Aldape K, Pyo Kim S, Widig E, Sumerauer D, Hauser P, van Landeghem F, et al. Crifiform neuroepithelial tumor (crinet): Molecular characterization of a smarb1-deficient non-rhabdoid tumor with favorable long-term outcome. *Brain Pathol*. 2017;27(4):411-418. <https://doi.org/10.1111/bpa.12413>
37. Korshunov A, Schrimpf D, Ryzhova M, Sturm D, Chavez L, Hovestadt V, Sharma T, Habel A, Burford A, Jones C, Zheludkova O, Kumirova E, Kramm CM, Golanov A, Capper D, von Deimling A, Pfister SM, Jones DT. H3-/IDH-wild type pediatric glioblastoma is comprised of molecularly and prognostically distinct subtypes with associated oncogenic drivers. *Acta Neuropathol*. 2017;134(3): 507-516. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1710-1>
38. Northcott PA, Buchhalter I, Morrissy AS, Hovestadt V, Weischenfeldt J, Ehrenberger T, Gröbner S, Segura-Wang M, Zichner T, Rudneva VA, Warnatz HJ, Sidiropoulos N, Phillips AH, Schumacher S, Kleinheinz K, et al. The whole-genome landscape of medulloblastoma subtypes. *Nature*. 2017;547(7663):311-317. <https://doi.org/10.1038/nature22973>
39. Korshunov A, Chavez L, Sharma T, Ryzhova M, Schrimpf D, Stichel D, Capper D, Sturm D, Kool M, Habel A, Kleinschmidt-DeMasters BK, Rosenblum M, Absalyamova O, Golanov A, Lichter P, et al. Epithelioid glioblastomas stratify into established diagnostic subsets upon integrated molecular analysis. *Brain Pathol*. 2018; 28(5):656-662. <https://doi.org/10.1111/bpa.12566>
40. Korshunov A, Chavez L, Northcott PA, Sharma T, Ryzhova M, Jones DTW, von Deimling A, Pfister SM, Kool M. DNA-methylation profiling discloses significant advantages over NanoString method for molecular classification of medulloblastoma. *Acta Neuropathol*. 2017;134(6):965-967. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1776-9>
41. Mack SC, Pajtler KW, Chavez L, Okonechnikov K, Bertrand KC, Wang X, Erkek S, Federation A, Song A, Lee C, Wang X, McDonald L, Morrow JJ, Saiakhova A, Sin-Chan P, et al. Therapeutic targeting of ependymoma as informed by oncogenic enhancer profiling. *Nature*. 2018;553(7686):101-105. <https://doi.org/10.1038/nature25169>
42. Korshunov A, Sahm F, Stichel D, Schrimpf D, Ryzhova M, Zheludkova O, Golanov A, Lichter P, Jones DTW, von Deimling A, Pfister SM, Kool M. Molecular characterization of medulloblastomas with extensive nodularity (MBEN). *Acta Neuropathol*. 2018;136(2):303-313.
43. Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, Koelsche C, Wefers A, Reinhardt A, Huang K, Sievers P, Shimizu H, Nanjo H, Kobayashi Y, Miyake Y, et al. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol*. 2018;136(1):153-166. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1849-4>
44. Capper D, Stichel D, Sahm F, Jones DTW, Schrimpf D, Sill M, Schmid S, Hovestadt V, Reuss DE, Koelsche C, Reinhardt A, Wefers AK, Huang K, Sievers P, Ebrahimi A, et al. Practical implementation of DNA methylation and copynumber-based CNS tumor diagnostics: the Heidelberg experience. *Acta Neuropathol*. 2018;136(2):181-210. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1879-y>
45. Koelsche C, Schrimpf D, Stichel D, Sill M, Sahm F, Reuss DE, Blattner M, Worst B, Heilig CE, Beck K, Horak P, Kreutzfeldt S, Pfaff E, Stark S, Johann P, et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling. *Nat Commun*. 2021;12(1):498. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20603-4>
46. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours. Lyon: IARC; 2021. (WHO classification of tumours series, 5th ed. vol. 6). <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>
47. Pickles JC, Stone TJ, Jacques TS. Methylation-based algorithms for diagnosis: experience from neuro-oncology. *J Pathol*. 2020; 250(5):510-517. <https://doi.org/10.1002/path.5397>

Поступила 12.01.2022

Received 12.01.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022

Роль молекулярно-генетических факторов в развитии холангиоцеллюлярного рака

© С.В. ЧУЛКОВА^{1,2}, В.И. ЛОГИНОВ³, Д.В. ПОДЛУЖНЫЙ¹, А.В. ЕГОРОВА², А.Ю. СЫСКОВА²,
Д.Г. СЕМИЧЕВ², И.А. ГЛАДИЛИНА^{1,2}, Н.Е. КУДАШКИН^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В статье освещены основные индукторы холангиокарциногенеза. Рассмотрены основные медиаторы воспаления (ИЛ-6, оксид азота, СОХ2). Представлены данные по изучению генных мутаций. Спектр генетических мутаций отличается в зависимости от локализации билиарного рака (при внутрипеченочной холангиокарциноме *FGFR2*, при внепеченочной холангиокарциноме *PRKACA*, *PRKACB*). При раке внепеченочных желчных протоков часто встречаются мутации в генах *KRAS*, *TP53*, *ARIAD1A*. Представлена роль эпигенетических изменений, таких как гиперметилирование ДНК, модификации гистонов, ремоделирование хроматина, а также нарушения в экспрессии микроРНК. Ряд эпигенетических особенностей (мутации гена *TP53* с гиперметилированием *p14ARF*, *DAPK* и/или *ASC*), коррелирует с более агрессивным течением болезни. Освещена роль гена *SOX17* в возникновении лекарственной резистентности. Изучение молекулярно-генетических характеристик рака внепеченочных желчных протоков может помочь глубже понять особенности патогенеза этого вида опухоли, установить новые прогностические и диагностические маркеры заболевания.

Ключевые слова: холангиокарцинома, молекулярно-генетические особенности, эпигенетические факторы.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Чулкова С.В. — <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>

Логинов В.И. — <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Подлужный Д.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7375-3378>

Егорова А.В. — <https://orcid.org/0000-0003-3904-8530>

Сысцова А.Ю. — <https://orcid.org/0000-0001-7163-2089>

Семичев Д.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-6148-8933>

Гладилина И.А. — <https://orcid.org/0000-0002-2481-0791>

Кудашкин Н.Е. — <https://orcid.org/0000-0003-0504-585X>

Автор, ответственный за переписку: Чулкова С.В. — e-mail: chulkova@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Чулкова С.В., Логинов В.И., Подлужный Д.В., Егорова А.В., Сысцова А.Ю., Семичев Д.Г., Гладилина И.А., Кудашкин Н.Е.

Роль молекулярно-генетических факторов в развитии холангиоцеллюлярного рака. *Архив патологии*. 2022;84(3):76–83.

<https://doi.org/10.17116/patol20228403176>

The role of molecular genetic factors in the development of cholangiocellular carcinoma

© S.V. CHULKOVA^{1,2}, V.I. LOGINOV³, D.V. PODLUZHNYI¹, A.V. EGOROVA², A.Yu. SYSKOVA², D.G. SEMICHEV²,
I.A. GLADILINA^{1,2}, N.E. KUDASHKIN^{1,2}

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; Moscow, Russia

³Scientific Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

ABSTRACT

The article lists the main inducers of cholangiocarcinogenesis. The main inflammatory mediators (IL-6, nitric oxide, COX2) have been considered. Data on the study of gene mutations in cholangiocarcinomas are presented. The spectrum of genetic mutations depends on the biliary cancer origin (*FGFR2* with intrahepatic cholangiocarcinoma, *PRKACA*, *PRKACB* with extrahepatic cholangiocarcinoma). Mutations in the *KRAS*, *TP53*, *ARIAD1A* genes are common in extrahepatic bile duct cancer. The role of epigenetic changes such as DNA hypermethylation, histone modifications, chromatin remodeling, as well as disturbances in miRNA expression is presented. A number of epigenetic features, such as the presence of a *TP53* mutations with hypermethylation of *p14ARF*, *DAPK*, and/or *ASC*, correlate with a more aggressive course of the disease. The role of the *SOX17* gene in the development of drug resistance is highlighted. The study of the molecular genetic features of extrahepatic bile duct cancer can help to better understand the pathogenesis of this type of tumor, to establish new prognostic and diagnostic markers of the disease.

Keywords: cholangiocarcinoma, molecular and genetic factors, epigenetic factors.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Chulkova S.V. — <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>

Loginov V.I. — <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Podluzhnyi D.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7375-3378>

Egorova A.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3904-8530>

Syskova A.Yu. — <https://orcid.org/0000-0001-7163-2089>

Semichiev D.G. — <https://orcid.org/0000-0001-6148-8933>

Gladilina I.A. — <https://orcid.org/0000-0002-2481-0791>

Kudashkin N.E. — <https://orcid.org/0000-0003-0504-585X>

Corresponding author: Chulkova S.V. — e-mail: chulkova@mail.ru

TO CITE THIS ARTICLE:

Chulkova SV, Loginov VI, Podluzhnyi DV, Egorova AV, Syskova AYU, Semichiev DG, Gladilina IA, Kudashkin NE. The role of molecular genetic factors in the development of cholangiocellular carcinoma. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(3):76–83. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/ptol20228403176>

Рак внепеченочных желчных протоков отличается крайне агрессивным течением. Для заболевания характерны раннее метастазирование, высокая частота возникновения рецидива после радикального хирургического лечения и, как следствие, высокая летальность [1]. Существующие схемы лекарственной терапии не обладают достаточной эффективностью.

Основные пусковые факторы процесса злокачественной трансформации холангиоцитов — хроническое воспаление желчных протоков и холестаз [1, 2]. Это приводит к нарушению клеточной пролиферации и клеточного цикла, а также подавляет апоптоз. Накопление желчных кислот в результате холестаза приводит к снижению pH, активации сигнальных путей ERK1/2, Akt и NF- κ B, которые стимулируют пролиферацию, миграцию и выживание клеток [3]. P.L. Labib и соавт. в обзорной статье [1], посвященной молекулярному патогенезу холангиокарциномы, отмечают такие медиаторы воспаления, как трансформирующий фактор роста- β , фактор роста эндотелия сосудов, фактор роста гепатоцитов, некоторые микроРНК. Повышенная экспрессия на клеточной поверхности рецептора c-Met, транспортера глюкозы GLUT-1 и симпортера йодида натрия приводит к росту опухоли, ангиогенезу и миграции клеток. Наблюдаются также стромальные изменения, вызывающие изменения в составе внеклеточного матрикса и рекрутирование фибробластов и макрофагов, которые создают микроокружение, способствующее выживанию, инвазии и метастазированию клеток [1].

Известно, что этиология и патогенез опухолевого роста связаны с усилением экспрессии протоонкогенов и подавлением генов онкосупрессоров, ведущих к неконтролируемой пролиферации, «уходу» от апоптоза, нарушению метаболизма опухолевой ткани. Причиной изменения экспрессии могут быть мутации, эпигенетические факторы, воздействие вирусов и транспозонов [4].

Мутации генов, участвующих в регуляции клеточного цикла и апоптоза, играют важную роль в патогенезе холангиокарциномы. По данным Б.Д. Гурмикова и соавт. [3], мутации гена *TP53* обнаружены у 21% больных раком желчных протоков. Мутации гена *KRAS* выявлены у 40% больных раком внепеченочных желчных протоков, изоцитратдегидрогеназы-1 и -2 (*IDH1/2*) — у 7% больных.

Мутации в генах изоцитратдегидрогеназ, факторах связывания и ремоделирования хроматина (*ARID1A*, *BAP1*, *PBRM1*, *SMARCB1*) встречаются в одной трети случаев холангиокарциномы. Эпигенетические изменения в генах,

контролирующих сигнальные пути, также играют важную роль в холангиокарциногенезе. Так, при холангиокарциноме часто обнаруживается гиперметилирование в гене *SOCS3* (*suppressor of cytokine signaling 3*) [5] и ассоциированное с этим усиление экспрессии *Mcl1* [6]. В 85% случаев холангиокарциномы установлено гиперметилирование промоторного CpG-островка гена *SFRP1*, участвующего в регуляции WNT-сигнального пути [7, 8].

Таким образом, можно выделить медиаторы воспаления, генные мутации и эпигенетические изменения как факторы молекулярного патогенеза холангиокарциномы [8].

Медиаторы воспаления

Хроническое воспаление — один из ключевых факторов холангиокарциногенеза. Высокая концентрация медиаторов воспаления (цитокины, факторы роста опухоли, циклооксигеназа-2) индуцирует мутации ДНК, генов онкосупрессоров и онкогенов, что обуславливает развитие опухоли [2].

Роль интерлейкина 6 (IL-6)

IL-6 является ключевым цитокином в патогенезе холангиокарциномы, оказывая влияние на пролиферацию и апоптоз клеток холангиокарциномы (рис. 1). Под действием IL-6 активируется сигнальный путь JAK-STAT [2, 4]. В нормальных холангиоцитах регуляция сигнального пути JAK-STAT происходит по типу отрицательной обратной связи путем синтеза цитокина — супрессора *SOCS3*, дефосфорилирующего JAK-киназы [9]. При холангиокарциноме отмечается снижение синтеза *SOCS3* [9]. IL-6 активирует STAT-3, что ведет к увеличению экспрессии антиапоптотического белка *Mcl1*. Это делает клетки холангиокарциномы устойчивыми к стандартной терапии [2].

IL-6 подавляет специфические микроРНК, что приводит к увеличению транскрипции фермента DNMT1 (DNA methyltransferase 1). Этот фермент участвует в процессах метилирования цитозина ДНК, что в свою очередь приводит к снижению экспрессии генов-супрессоров опухоли [10].

Активация p44/42 и p38 MAPK под действием IL-6 вызывает пролиферацию и снижение экспрессии медиатора клеточного старения p21 [11, 12].

Отмечено, что IL-6 воздействует на длину теломер путем повышения активности теломеразы во время митоза, что позволяет клеткам уклоняться от клеточного старения, а также опосредует гиперэкспрессию EGFR [13].

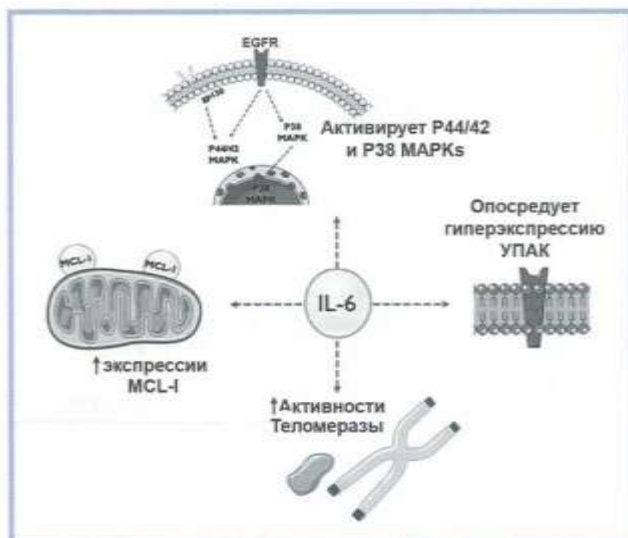


Рис. 1. Роль IL-6 в патогенезе холангиокарциномы [13].

Fig. 1. The role of IL-6 in the pathogenesis of cholangiocarcinoma [13].

T. Shimura и соавт. [14] сообщают, что уровень сывороточного IL-6 у больных внепеченочной холангиокарциномой достоверно выше, чем в группе здоровых людей.

Роль COX2 и оксида азота

Активация p44/42 и p38 MAPK вызывает увеличенный синтез циклооксигеназы-2, что приводит к угнетению апоптоза и повышению пролиферативной активности. Кроме того, экспрессию гена *COX2* индуцирует тирозинкиназа Erb-2 [15, 16]. Еще одним механизмом влияния на рост продукции COX2 является синтаза оксида азота (iNOS), активирующаяся под действием воспалительных цитокинов. Под действием iNOS происходит гиперпродукция оксида азота, что в свою очередь ведет к дезаминированию ДНК и повреждению ее структуры [17, 18]. Повышенное содержание оксида азота запускает трансмембранный рецептор Notch1, который, взаимодействуя с COX2, повышает резистентность клеток к апоптозу (рис. 2). Повышенная активность Notch 1 и COX2 была отмечена при внутри- и внепеченочной холангиокарциноме [19].

Генные мутации

В исследовании Н. Lee и соавт. [20] изучен геномный профиль 99 пациентов с диагнозом рака внепеченочных желчных протоков. У 82 (83%) больных внепеченочной холангиокарциномой были обнаружены мутации следующих генов: *KRAS* (43%); *ERBB2* (9%), *PTEN* (7%); *ATM* и *NF1* (6%) и *CCND1*, *FBXW7*, *GNAS*, *MDM2* и *NRAS* (все по 5%). Мутации в генах *BRAF*, *BRCA2*, *CDK4*, *CDK6*, *FGFR1*, *FGFR3*, *PTCH1*, *RAF1* и *STK11* были выявлены в единичных случаях. Мутаций в генах *IDH1* и *IDH2* не выявлено [20]. На рис. 3 представлена гистологическая картина умереннодифференцированной аденокарциномы желчного протока с мутацией *ERBB2* S310F. Известно, что мутации внеклеточного домена *ERBB2* реагируют на таргетную анти-HER2-терапию, что означает возможность ее использования в лечении таких пациентов. Применение двойной блокады HER2 пертузумабом и трастузумабом пока не вхо-



Рис. 2. Роль циклооксигеназы-2 и оксида азота в патогенезе холангиокарциномы.

Fig. 2. The role of cyclooxygenase-2 and nitric oxide in the pathogenesis of cholangiocarcinoma.

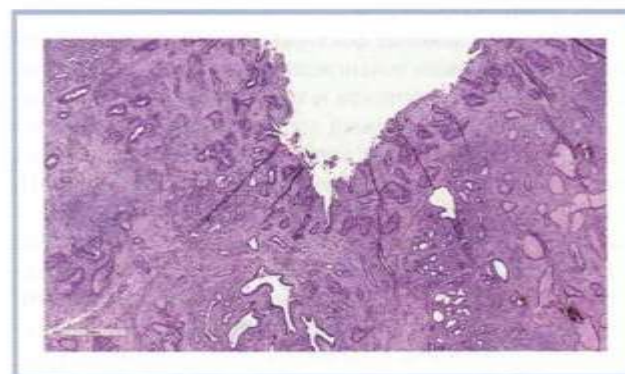


Рис. 3. Внепеченочная холангиокарцинома с мутацией *ERBB2* S310F. Окраска гематоксилином и эозином [20].

Fig. 3. Extrahepatic cholangiocarcinoma with *ERBB2* S310F mutation. H&E. [20].

дит в клинические рекомендации, одобренные Минздравом России, но, как считают многие исследователи, может быть использовано в качестве второй и последующих линий терапии.

Стоит отдельно подчеркнуть наличие различных профилей мутации генов. Это было показано в исследовании N. Nakamura и соавт. [21], выполненном на гистологическом материале 260 больных холангиокарциномой (внутрипеченочная локализация 145, внепеченочная 86 и желчный пузырь 29). При исследовании внутрипеченочной холангиокарциномы были обнаружены мутации в гене *FGFR2*, при изучении внепеченочной холангиокарциномы выявлены мутации в генах *PRKACA*, *PRKACB*, при раке желчного пузыря найдены нарушения в генах *EGFR* и/или *ERBB3* [21].

В работе A. Ruzzenente и соавт. [22] был проанализирован мутационный статус 56 генов у 91 пациента. При внепеченочной локализации опухоли наиболее часто обнаруживались мутации в генах *KRAS* (47,4%), *TP53* (23,7%), *ARIADIA* (15,8%). Отмечено, что мутации в генах *ALK*,

IDH1 и *TP53* ассоциированы с худшим прогнозом у пациентов с внепеченочной холангиокарциномой [22].

В обзоре E. Roos и соавт. [23] отмечают, что у больных карциномами билиарного тракта наиболее часто выявлялись мутации в гене *TP53* вне зависимости от локализации опухоли. Отдельно изучен генетический профиль у больных раком внепеченочных желчных протоков с использованием полногеномного секвенирования (WES: whole exome sequencing, WGS: whole genome sequencing, TS: targeted sequencing). По результатам WES/WGS секвенирования наиболее часто обнаруживались мутации в генах *TP53* (37%), *SMAD4* (17%), *KRAS* (16%), *SYNE1* (13%) и *ARID1A* (13%). При исследовании методом TS отмечены мутации в генах *TP53* (19%), *MUC16* (18%), *SACS* (15%), *KRAS* (14%) и *FSIP2* (14%). Мутации генов *APC*, *GNAS* и *TGFB2*, характерные для интестинального подтипа опухоли, обнаружены также при раке внепеченочных желчных протоков.

A.F. Brito и соавт. [13] в своей статье также указывают на высокую частоту встречаемости мутации генов *KRAS* и *TP53* и ассоциированный с этим фактором более агрессивный фенотип опухоли. Авторы отмечают выявление гиперэкспрессии тирозинкиназного рецептора EGFR в клетках рака желчных протоков и связанную с этим стимуляцию пролиферации клеток и «уход» от апоптоза.

Эпигенетические факторы

Гиперметилирование ДНК

В ходе исследования эпигенетического профиля преинвазивных опухолей желчных путей были обнаружены ассоциированные со злокачественной трансформацией эпигенетические мутации. В частности, гиперметилирование промотора гена *CDKN2A* (*p16^{INK4a}*) при внутрипротоковой папиллярной неоплазии и *HOXA1* при билиарной интраэпителиальной неоплазии [24, 25].

Мутации гена *KRAS* запускают процессы гиперметилирования CpG-островков, а мутации гена *TP53* индуцируют экспрессию гистонметилтрансфераз (HMT), что приводит к модификации хроматина в опухолевых клетках [26].

По данным обзорной статьи S. Kongeprch и соавт. [27], при холангиокарциноме обнаружено гиперметилирование генов *CDKN2A* (17–83%), *p15(INK4b)* (54%), *p14(ARF)* (19–30%), *RASSF1A* (31–69%) и *APC* (27–47%). Мутации гена *TP53* в образцах с гиперметилированием генов *p14(ARF)*, *DAPK* и/или *ASC* ассоциированы с более агрессивным течением болезни и худшей выживаемостью [28]. Гиперметилирование промоторного CpG-островка гена *SOX17* служит примером того, как одиочная эпимутация может вызвать дедифференцировку зрелого холангиоцита, увеличение пролиферации, индукцию онкогенов клеточного цикла, инвазию опухоли, возникновение лекарственной резистентности [29].

МикроРНК

МикроРНК представляют собой короткие некодирующие РНК последовательности, участвующие в регуляции экспрессии генов на пост-транскрипционном уровне. Как известно, основная функция микроРНК — нарушение трансляции посредством связывания с определенной последовательностью мРНК, результатом чего является изменение или подавление синтеза белка [30]. Причем степень комплементарности последовательностей между микроРНК и мишенью на мРНК определяет механизм подавления: полная комплементарность приводит

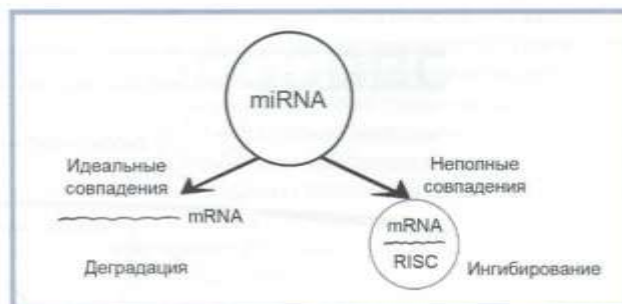


Рис. 4. Степени комплементарности микроРНК [38].

Fig. 4. Degrees of miRNA complementarity [38].

к деградации мРНК, а частичная — к подавлению трансляции (рис. 4) [32].

Изменение профиля экспрессии микроРНК в сыворотке и плазме крови отмечено при многих злокачественных опухолях: раке молочной железы, раке легкого, меланоме и др. [30, 32, 33]. При холангиокарциногенезе также отмечается изменение уровня экспрессии микроРНК. Повышение экспрессии *miR-let-7a* сопровождается снижением экспрессии гена-супрессора опухоли *NF2* и последующей активацией *STAT3* [34]. Снижение экспрессии *miR-148a* и *miR-152* приводит к увеличению активности *DNMT1*, что в свою очередь вызывает метилирование генов-супрессоров опухолей *p16INK4a* и *RASSF1A* [18]. Подавление экспрессии *miR-370* повышает экспрессию онкогена *MAP3K8* [35].

Активация Wnt/ β -катенин-сигнального пути из-за продукции лигандов Wnt макрофагами связана с повышенной экспрессией длинной некодирующей РНК uc.158 (днРНК) [36]. Так, днРНК, подобно микроРНК, регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне и могут взаимодействовать с микроРНК [37]. ДнРНК uc.158, по-видимому, конкурентно ингибирует *miR-193b* которая имеет проапоптотическую функцию [36]. Этот механизм может объяснить один из способов, которыми активация пути Wnt/ β -catenin приводит к подавлению апоптоза.

Клетки-предшественники и трансформация зрелых холангиоцитов

Билиарные клетки-предшественники служат источником редких комбинированных форм опухоли — комбинированного гепатохолангиоцеллюлярного рака. При геномном анализе этого вида опухоли обнаружены гепатоциты и холангиоциты, экспрессирующие маркеры стволовых клеток (*SALL4*) [38]. Комбинированный гепатохолангиоцеллюлярный рак и холангиокарцинома с фенотипом, подобным стволовым клеткам, ассоциированы с худшим прогнозом выживаемости пациентов [38]. При этом отмечается, что в нормальных условиях регенерация печени происходит преимущественно через деление зрелых гепатоцитов, а не клеток-предшественников. Напротив, в условиях хронического воспалительного процесса в желчных протоках и печени отмечается активация стволовых клеток, что делает их восприимчивыми к эпигенетическим и генетическим изменениям [39].

Другая модель холангиокарциногенеза — эпигенетическая и генетическая трансформация зрелых холангиоцитов. Трансформация муциносекретирующих холангиоцитов характерна для воротной холангиокарциномы, в то время

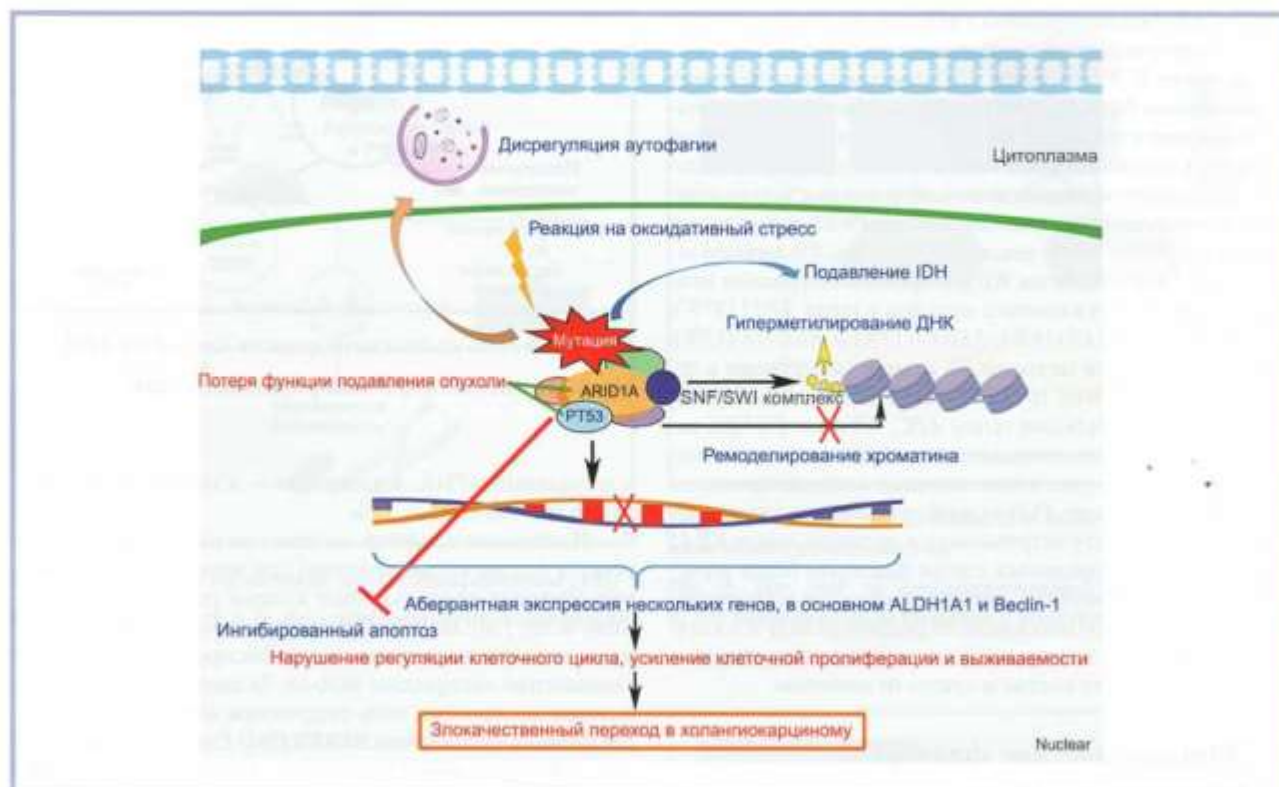


Рис. 5. Схема патогенеза холангиокарциномы при мутации в гене *ARID1A* [42].

Fig. 5. Pathogenesis scheme of cholangiocarcinoma with gene *ARID1A* mutation [42].

как внутрипеченочная холангиокарцинома может возникать из зрелых или незрелых холангиоцитов, расположенных в междольковых или в крупных желчных протоках. Описано действие генов *TP53* и *KRAS* как эпигенетических модуляторов. Доказано, что введение мутировавших *TP53* и *KRAS in vivo* вызывает трансформацию зрелых холангиоцитов в злокачественную опухоль [34].

Гистоны

Большое количество исследований геномного профиля холангиокарциномы демонстрирует роль метилирования и деметилирования гистонов, а также ремоделирования хроматина в холангиокарциногенезе. В частности, выявлены мутации в гене *ARID1A*, кодирующем ДНК-связывающую субъединицу комплекса белков ремоделирования хроматина SWI/SNF [40]. *ARID1A* обычно оказывает опухолесупрессивное действие, и мутация в нем может вызывать нарушение регуляции клеточного цикла, что приводит к ингибированию апоптоза и неконтролируемой пролиферации клеток (рис. 5) [41]. Инактивация *ARID1A* и *PBRM1* ассоциирована с формированием инвазивного фенотипа опухоли [42].

По данным ряда исследований, при холангиокарциногенезе обнаружена сверхэкспрессия гистондеацетилаз (HDACs), хотя последствия для генома не были исследованы [43]. Функционально избыточная экспрессия HDAC6 связана с повышенной пролиферацией клеток, угнетением апоптоза, метастазированием и потерей ресничек у холангиоцитов (рис. 6) [44, 45]. EZH2 (энхансер zeste homolog 2), являющийся каталитическим компонентом для метилирования H3K27 через поликомб-репрессив-

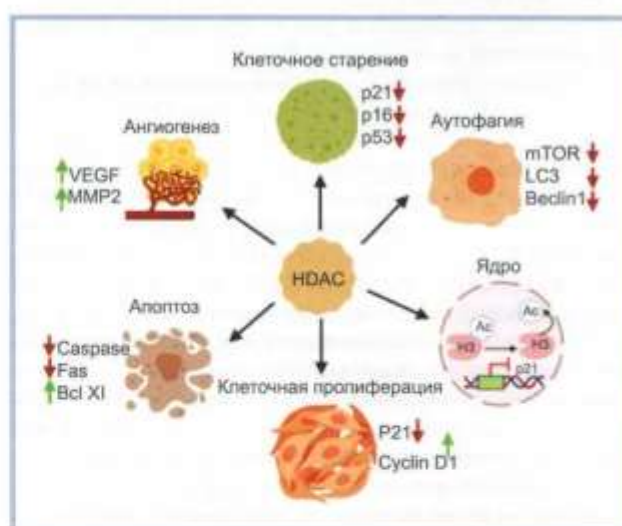


Рис. 6. Последствия избыточной экспрессии HDAC6 [46].

Fig. 6. Consequences of HDAC6 overexpression [46].

ный комплекс 2 (PRC2), также активируется при холангиокарциномах, и уровень его экспрессии положительно коррелирует с неблагоприятным прогнозом [46]. Несмотря на установленные убедительные транскрипционные и мутационные изменения исследователи не смогли оценить (эпи)последствия этих изменений для всего генома. Это требует дальнейшего изучения.

Заключение

Существует большое количество генетических, эпигенетических и других молекулярных факторов развития, роста и прогрессирования холангиокарциномы. В настоящее время доказана роль медиаторов воспаления, в частности, ИЛ-6, ЦОГ-2 и оксида азота, в холангиокарциногенезе. Подтверждена высокая частота встречаемости мутаций генов *KRAS* и *TP53*, выявленных в опухолях внепеченочных желчных протоков.

Установлен комплекс эпигенетических изменений, инициирующих и сопровождающих холангиокарциногенез. Отмечены эпигенетические маркеры негативного прогноза заболевания. В частности, наличие мутации гена *TP53* с гиперметилированием *p14ARF*, *DAPK* и/или *ASC* свя-

зано с более агрессивным течением болезни. Инактивация гена *SOX17* в результате гиперметилирования его промотора приводит к возникновению лекарственной резистентности. Холангиокарцинома с фенотипом стволовых клеток ассоциирована с худшим прогнозом выживаемости пациентов.

Изучение молекулярно-генетических особенностей рака внепеченочных желчных протоков может помочь глубже понять особенности патогенеза этого вида опухоли, установить новые прогностические и диагностические маркеры заболевания. Возможно, в дальнейшем по мере накопления знаний это позволит индивидуализировать подходы к лечению такой категории больных.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Labib PL, Goodchild G, Pereira SP. Molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *BMC Cancer*. 2019;19(1):185. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5391-0>
- Fouassier L, Marziani M, Afonso MB, Dooley S, Gaston K, Giannelli G, Rodrigues CMP, Lozano E, Mancarella S, Segatto O, Vaquero J, Marin JJG, Coulouarn C. Signalling networks in cholangiocarcinoma: Molecular pathogenesis, targeted therapies and drug resistance. *Liver Int*. 2019;39(suppl 1):43-62. <https://doi.org/10.1111/liv.14102>
- Гурмиков Б.Н., Коваленко Ю.А., Вишневецкий В.А., Чжао А.В. Молекулярно-генетические аспекты внутрипеченочного холангиоцеллюлярного рака: обзор литературы. *Успехи молекулярной онкологии*. 2019;6(1):37-43.
- Gurmikov BN, Kovalenko YuA, Vishnevsky VA, Chzhao AV. Molecular genetic aspects of intrahepatic cholangiocarcinoma: literature review. *Advances in Molecular Oncology=Uspechi molekulyarnoi onkologii*. 2019;6(1):37-43. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2019-6-1-37-43>
- Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Эпигенетика канцерогенеза. *Креативная хирургия и онкология*. 2017;7(3):60-67. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2017-7-3-60-67>
- Mustafin RN, Khusnutdinova EK. Epigenetics of carcinogenesis. *Creative Surgery and Oncology=Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*. 2017;7(3):60-67. (In Russ.). <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2017-7-3-60-67>
- Wang Y, Wan M, Zhou Q, Wang H, Wang Z, Zhong X, Zhang L, Tai S, Cui Y. The Prognostic role of SOCS3 and A20 in human cholangiocarcinoma. *PLoS One*. 2015;10(10):e0141165. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141165>
- Jiang K, Centeno BA. Primary liver cancers, Part 2: Progression pathways and carcinogenesis. *Cancer Control*. 2018;25(1):1073274817744658. <https://doi.org/10.1177/1073274817744658>
- Andresen K1, Boberg KM, Vedeld HM, Honne H, Hektoen M, Wadsworth CA, Clausen OP, Karlsen TH, Foss A, Mathisen O, Schrumph E, Lothe RA, Lind GE. Novel target genes and a valid biomarker panel identified for cholangiocarcinoma. *Epigenetics*. 2012;7(11):1249-1257. <https://doi.org/10.4161/epi.22191>
- Tshering G, Dorji PW, Chajaroenkul W, Na-Bangchang K. Biomarkers for the diagnosis of cholangiocarcinoma: A systematic review. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(6):1788-1797. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0879>
- Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signaling and immune regulation. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):454-465. <https://doi.org/10.1038/nri2093>
- Braconi C, Huang N, Patel T. MicroRNA-dependent regulation of DNA methyltransferase-1 and tumor suppressor gene expression by interleukin-6 in human malignant cholangiocytes. *Hepatology*. 2010;51(3):881-890. <https://doi.org/10.1002/hep.23381>
- Tadlock L. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase signaling in transformed growth of a cholangiocarcinoma cell line. *Hepatology*. 2001;33(1):43-51. <https://doi.org/10.1053/jhep.2001.20676>
- Roy S, Glaser S, Chakraborty S. Inflammation and progression of cholangiocarcinoma: role of angiogenic and lymphangiogenic mechanisms. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:293. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00293>
- Brito AF, Abrantes AM, Encarnação JC, Tralhão JG, Botelho MF. Cholangiocarcinoma: from molecular biology to treatment. *Med Oncol*. 2015;32(11):245. <https://doi.org/10.1007/s12032-015-0692-x>
- Shimura T, Shibata M, Gonda K, Kofunato Y, Okada R, Ishigame T, Kimura T, Kenjo A, Marubashi S, Kono K, Takenoshita S. Clinical significance of soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-6 in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma. *J Invest Surg*. 2018;31(6):475-482. <https://doi.org/10.1080/08941939.2017.1358310>
- Sirica A. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14(46):7033. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.7033>
- Pellat A, Vaquero J, Fouassier L. Role of ErbB/HER family of receptor tyrosine kinases in cholangiocyte biology. *Hepatology*. 2018;67(2):762-773. <https://doi.org/10.1002/hep.29350>
- Jaiswal M, LaRusso N, Shapiro R, Billiar T, Gores G. Nitric oxide-mediated inhibition of DNA repair potentiates oxidative DNA damage in cholangiocytes. *Gastroenterology*. 2001;120(1):190-199. <https://doi.org/10.1053/gast.2001.20875>
- Wei J, Wang B, Wang H, Meng L, Zhao Q, Li X, Xin Y, Jiang X. Radiation-induced normal tissue damage: oxidative stress and epigenetic mechanisms. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:3010342. <https://doi.org/10.1155/2019/3010342>
- Wu WR, Zhang R, Shi XD, Zhu MS, Xu LB, Zeng H, Liu C. Notch1 is overexpressed in human intrahepatic cholangiocarcinoma and is associated with its proliferation, invasiveness and sensitivity to 5-fluorouracil in vitro. *Oncol Rep*. 2014;31:2515-2524. <https://doi.org/10.3892/or.2014.3123>
- Lee H, Wang K, Johnson A, Jones DM, Ali SM, Elvin JA, Yelensky R, Lipson D, Miller VA, Stephens PJ, Javle M, Ross JS. Comprehensive genomic profiling of extrahepatic cholangiocar-

- cinoma reveals a long tail of therapeutic targets. *J Clin Pathol*. 2016;69(5):403-408. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-203394>
21. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, Shirota T, Elzawahry A, Kato M, Hama N, Hosoda F, Urushidate T, Ohashi S, Hiraoka N, Ojima H, Shimada K, Okusaka T, Kosuge T, Miyagawa S, Shibata T. Genomic spectra of biliary tract cancer. *Nat Genet*. 2015;47(9):1003-1010. <https://doi.org/10.1038/ng.3375>
 22. Ruzzenente A, Fassan M, Conci S, Simbolo M, Lawlor RT, Pedrazzani C, Capelli P3, D'Onofrio M, Iacono C, Scarpa A, Guglielmi A. Cholangiocarcinoma heterogeneity revealed by multigene mutational profiling: clinical and prognostic relevance in surgically resected patients. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(5):1699-1707. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-5046-6>
 23. Roos E, Soer EC, Klompmaier S, Meijer LL, Besselink MG, Giovannetti E, Heger M, Kazemier G, Klumpen HJ, Takkenberg RB, Wilmink H, Würdinger T, Dijk F, van Gulik TM, Verheij J, van de Vijver MJ. Crossing borders: A systematic review with quantitative analysis of genetic mutations of carcinomas of the biliary tract. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;140:8-16. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.05.011>
 24. Kim BH, Cho NY, Shin SH, Kwon HJ, Jang JJ, Kang GH. CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant lesion of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch*. 2009;455(4):343-351. <https://doi.org/10.1007/s00428-009-0829-4>
 25. Sasaki M, Yamaguchi J, Itatsu K, Ikeda H, Nakanuma Y. Over-expression of polycomb group protein EZH2 relates to decreased expression of p16 INK4a in cholangiocarcinogenesis in hepatolithiasis. *J Pathol*. 2008;215(2):175-183. <https://doi.org/10.1002/path.2345>
 26. Castven D, Becker D, Czauderna C, Wilhelm D, Andersen JB, Strand S, Hartmann M, Heilmann-Heimbach S, Roth W, Hartmann N, Straub BK, Mahn FL, Franck S, Pereira S, Haupts A, et al. Application of patient-derived liver cancer cells for phenotypic characterization and therapeutic target identification. *Int J Cancer*. 2019;144(11):2782-2794. <https://doi.org/10.1002/ijc.32026>
 27. Kongpetch S, Jusakul A, Ong CK, Lim WK, Rozen SG, Tan P, Teh BT. Pathogenesis of cholangiocarcinoma: From genetics to signalling pathways. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2015;29(2):233-244. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.02.002>
 28. Xiaofang L, Kun T, Shaoping Y, Zaiqiu W, Hailong S. Correlation between promoter methylation of p14(ARF), TMS1/ASC, and DAPK, and p53 mutation with prognosis in cholangiocarcinoma. *World J Surg Oncol*. 2012;10:5. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-10-5>
 29. Merino-Azpitarte M, Lozano E, Perugorria MJ, Esparza-Baquero A, Erice O, Santos-Laso A, O'Rourke CJ, Andersen JB, Jiménez-Aguero R, Lacasta A, D'Amato M, Briz Ó, Jalan-Sakrikar N, Huebert RC, Thelen KM, et al SOX17 regulates cholangiocyte differentiation and acts as a tumor suppressor in cholangiocarcinoma. *J Hepatol*. 2017;67(1):72-83. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.02.017>
 30. Чулкива С.В., Рябчиков Д.А., Дудина И.А., Казаков А.М., Егорова А.В., Титов К.С., Хагажеева М.Н., Гладилина И.А., Галаева З.М., Лепкова Н.В., Тупицын Н.Н. Перспективы использования микроРНК в качестве диагностических и прогностических биомаркеров меланомы. *Российский биотерапевтический журнал*. 2019;18(4):51-56. Chulkova SV, Ryabchikov DA, Dudina IA, Kazakov AM, Egorova AV, Titov KS, Hagazheeva MN, Gladilina IA, Galaeva ZM, Lepkova NV, Tupitsyn NN. The prospects for the use of microRNA as diagnostic and prognostic melanoma biomarkers. *Russian Journal of Biotherapy=Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2019;18(4):51-56. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2019-18-4-51-56>
 31. Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А., Чулкива С.В., Денчик Д.А., Чхиквадзе Н.В., Талипов О.А., Воротников И.К. Роль микроРНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России*. 2018;18(2):5. Ryabchikov DA, Abdullaeva EI, Dudina IA, Chulkova SV, Denchik DA, Chkhikvadze NV, Talipov OA, Vorotnikov IK. The role of micro-RNA in cancerogenesis and breast cancer prognosis. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii Minzdrava Rossii*. 2018;18(2):5. (In Russ.). <https://vestnik.mrcrr.ru/vestnik/v18/docs/ryabchikov.pdf>
 32. Рябчиков Д.А., Чулкива С.В., Талипов О.А., Воротников И.К., Казаков А.М., Осипова А.А., Бердова Ф.К. Результаты анализа метилирования генов микроРНК в различных подтипах рака молочной железы. *Онкогинекология*. 2020;3:4-14. Ryabchikov DA, Chulkova SV, Talipov OA, Vorotnikov IK, Kazakov AM, Osipova AA, Berdova FK. Results of microRNA gene methylation analysis in different breast cancer subtypes. *Oncogynecology=Onkoginekologiya*. 2020;(3):4-14. (In Russ.). https://osors.ru/oncogynecology/JurText/j2020_3/03_20_04.pdf
 33. Талипов О.А., Рябчиков Д.А., Чулкива С.В., Воротников И.К., Казаков А.М., Логинов В.И., Казубская Т.П., Винокуров М.С., Осипова А.А., Бердова Ф.К. Метилирование генов супрессорных микроРНК при раке молочной железы. *Онкогинекология*. 2020;2:14-22. Talipov OA, Ryabchikov DA, Chulkova SV, Vorotnikov IK, Kazakov AM, Loginov VI, Kazubskaya TP, Vinokurov MS, Osipova AA, Berdova FK. Methylation of suppressor microRNA genes in breast cancer. *Oncogynecology=Onkoginekologiya*. 2020;(2):14-22. (In Russ.). https://osors.ru/oncogynecology/JurText/j2020_2/02_20_15.pdf
 34. Hill MA, Alexander WB, Guo B, Kato Y, Patra K, O'Dell MR, McCall MN, Whitney-Miller CL, Bardeesy N, Hezel AF, Kras and Tp53 mutations cause cholangiocyte- and hepatocyte-derived cholangiocarcinoma. *Cancer Res*. 2018;78(16):4445-1. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1123>
 35. Meng F, Wehbe-Janek H, Henson R, Smith H, Patel T. Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes. *Oncogene*. 2007;27(3):378-386. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210648>
 36. Fernández-Barrena M, Perugorria M, Banales J. Novel lncRNA T-UCR as a potential downstream driver of the Wnt/ β -catenin pathway in hepatobiliary carcinogenesis. *Gut*. 2016;66(7):1177-1178. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312899>
 37. Wangyang Z, Daolin J, Yi X, Zhenglong L, Lining H, Yunfu C, Xingming J. ncRNAs and cholangiocarcinoma. *J Cancer*. 2018;9(1):100-107. <https://doi.org/10.7150/jca.21785>
 38. Moeini A, Sia D, Zhang Z, Camprecios G, Stueck A, Dong H, Montal R, Torrens L, Martinez-Quetglas I, Fiel MI, Hao K, Villanueva A, Thung SN, Schwartz ME, Llovet JM. Mixed hepatocellular cholangiocarcinoma tumors: Cholangiolocellular carcinoma is a distinct molecular entity. *J Hepatol*. 2017;66(5):952-961. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.01.010>
 39. O'Rourke CJ, Lafuente-Barquero J, Andersen JB. Epigenome remodeling in cholangiocarcinoma. *Trends Cancer*. 2019;5(6):335-350. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.05.002>
 40. Weber J, Öllinger R, Friedrich M, Ehmer U, Barenboim M, Steiger K, Heid I, Mueller S, Maresch R, Engleitner T, Gross N, Gemann U, Fu B, Segler A, Yuan D, et al. CRISPR/Cas9 somatic multiplex-mutagenesis for high-throughput functional cancer genomics in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(45):13982-13987. <https://doi.org/10.1073/pnas.1512392112>
 41. Zhao S, Xu Y, Wu W, Wang P, Wang Y, Jiang H and Zhu J. ARI-DIA variations in cholangiocarcinoma: clinical significances and molecular mechanisms. *Front Oncol*. 2021;11:693295. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.693295>

42. Sasaki M, Nitta T, Sato Y, Nakanuma Y. Loss of ARID1A expression presents a novel pathway of carcinogenesis in biliary carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2016;145(6):815-825. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw071>
43. Morine Y, Shimada M, Iwahashi S, Utsunomiya T, Imura S, Ikemoto T, Mori H, Hanaoka J, Miyake H. Role of histone deacetylase expression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Surgery*. 2012;151(3):412-419. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.07.038>
44. Gradilone S, Radtke B, Bogert P, Huang B, Gajdos G, LaRusso N. HDAC6 inhibition restores ciliary expression and decreases tumor growth. *Cancer Res*. 2013;73(7):2259-2270. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-12-2938>
45. Pant K, Peixoto E, Richard S, Gradilone SA. Role of histone deacetylases in carcinogenesis: potential role in cholangiocarcinoma. *Cells*. 2020;9(3):780. <https://doi.org/10.3390/cells9030780>
46. Nakagawa S, Okabe H, Sakamoto Y, Hayashi H, Hashimoto D, Yokoyama N, Sakamoto K, Kuroki H, Mima K, Nitta H, Imai K, Chikamoto A, Watanabe M, Beppu T, Baba H. Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) promotes progression of cholangiocarcinoma cells by regulating cell cycle and apoptosis. *Ann Surg Oncol*. 2013;20(suppl 3):667-675. <https://doi.org/10.1245/s10434-013-3135-y>

Поступила 02.02.2022

Received 02.02.2022

Принята в печать 10.03.2022

Accepted 10.03.2022



МЕДИА
СФЕРА

ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСТВА

на сайте mediasphera.ru



Подписка на почте:

- онлайн, не выходя из дома: podpiska.pochta.ru
- в отделениях связи по подписным индексам (указаны на странице выходных данных)

Подписка через агентства, в том числе для юридических лиц:

- «Агентство Книга-Сервис»: akc.ru
- «Урал-Пресс»: ural-press.ru

По вопросам подписки:

- zakaz@mediasphera.ru
- +7 495 482 4329

ВСЁ



ДЛЯ ПАТО- МОРФОЛОГИИ*

- Прием и транспортировка материала
- Вырезка и маркировка
- Гистологическая проводка
- Заливка в парафин
- Микротомия
- Гистологическое окрашивание
- Иммуногистохимия
- Молекулярные методы
- Заключение под стекло
- Создание цифровой копии препарата
- Микроскопическое исследование
- Архивирование блоков и стекол
- Криотомия
- Цитология

* Ассортимент предлагаемой продукции предназначен для использования на всех ключевых этапах патоморфологического исследования.

Оборудование
для автоматизации
каждого этапа

Оригинальные реагенты
и расходные материалы

Программное обеспечение
для всех ключевых этапов



ООО «БиоЛайн»,
Россия, 197022,
Санкт-Петербург,
ул. Профессора Попова,
д. 23, Лит. Е
тел.: +7 (812) 320 49 49
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
Уфа, тел.: +7 (3472) 86 21 09

Единый бесплатный
номер сервисной
службы для всех
регионов России:

8 800 444 33 49