

# КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

При поддержке Российского общества патологоанатомов

Том 10 | № 3 | 2021

ISSN 2226-5988 (print)

ISSN 2686-6749 (online)

**«Клиническая  
и экспериментальная  
морфология»**

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ  
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Периодичность 4 раза в год

Основан в 2011 году

Журнал индексируется в:  
Scopus;  
RSCI;  
РИНЦ;  
представлен в информационной  
базе данных eLIBRARY.ru

Включен в перечень ВАК

## Учредитель

ФГБНУ «Научно-  
исследовательский институт  
морфологии человека  
имени академика А.П. Авцына»  
117418, Москва,  
ул. Цюрипы, д. 3

## Адрес редакции

117418, Москва,  
ул. Цюрипы, д. 3

**Телефоны** +7 (499) 120-13-34  
+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru

www.cem-journal.ru

Тираж 500 экземпляров

Издательство  
«Группа МДВ»  
www.mdv-group.ru

## Подписные индексы:

**70045** по каталогу  
«Урал-Пресс»

**70045** по каталогу АРЗИ

Свидетельство о регистрации  
средства массовой информации  
ПИ № ФС77-47183  
от 2 ноября 2011 года.

© ФГБНУ «Научно-  
исследовательский институт  
морфологии человека  
имени академика А.П. Авцына»

## Главный редактор

*Михалева Л.М.*, доктор мед. наук, профессор

## Почетный редактор

*Кактурский Л.В.*, член-корреспондент РАН, доктор мед. наук, профессор

## Заместители главного редактора

*Зайратьяниц О.В.*, доктор мед. наук, профессор, Москва, Россия

*Макарова О.В.*, доктор мед. наук, профессор, Москва, Россия

## Ответственный секретарь

*Болтовская М.Н.*, доктор биол. наук, профессор, Москва, Россия

## Редакционная коллегия

*Александрова М.А.*, доктор биол. наук,  
Москва, Россия

*Алексеева Н.Т.*, доктор мед. наук,  
профессор, Воронеж, Россия

*Андреева Е.Р.*, доктор биол. наук, доцент,  
Москва, Россия

*Банин В.В.*, член-корр. РАН, доктор мед.  
наук, профессор, Москва, Россия

*Большакова Г.Б.*, доктор биол. наук,  
Москва, Россия

*Буравков С.В.*, доктор мед. наук,  
Москва, Россия

*Гарновская М.Н.*, кандидат биол. наук,  
доцент, Чарльстон, США

*Ковригина А.М.*, доктор биол. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Коришнов А.Г.*, доктор мед. наук,  
профессор, Гейдельберг, Германия

*Кочуков М.Ю.*, кандидат мед. наук,  
Хьюстон, США

*Кушлинский Н.Е.*, академик РАН, доктор  
мед. наук, профессор, Москва, Россия

*Марков И.И.*, доктор мед. наук,  
профессор, Самара, Россия

*Никитюк Д.Б.*, член-корр. РАН,  
доктор мед. наук, профессор,  
Москва, Россия

*Николенко В.Н.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Пауков В.С.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Постнов А.Ю.*, доктор мед. наук,  
Москва, Россия

*Рогов Ю.И.*, кандидат мед. наук,  
доцент, Минск, Республика Беларусь

*Рыжова М.В.*, доктор мед. наук,  
Москва, Россия

*Савельев С.В.*, доктор биол. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Черняев А.Л.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Яглова Н.В.*, доктор мед. наук,  
Москва, Россия

## Редакционный совет

*Волошук И.Н.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Воронин К.Э.*, доктор мед. наук, доцент,  
Чарльстон, США

*Доросевич А.Е.*, доктор мед. наук,  
профессор, Смоленск, Россия

*Ермолаева С.А.*, доктор мед. наук,  
Москва, Россия

*Ерофеева Л.М.*, доктор биол. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Знойко И.Ю.*, кандидат биол. наук,  
Чарльстон, США

*Кондашевская М.В.*, доктор биол. наук,  
доцент, Москва, Россия

*Кононов А.В.*, доктор мед. наук,  
профессор, Омск, Россия

*Кравцов В.Г.*, кандидат мед. наук,  
Тель-Авив, Израиль

*Милованов А.П.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Мишнев О.Д.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Мхитаров В.А.*, кандидат биол. наук,  
Москва, Россия

*Новочадов В.В.*, доктор мед. наук,  
профессор, Волгоград, Россия

*Пархоменко Ю.Г.*, доктор мед. наук,  
профессор, Москва, Россия

*Рыбакова М.Г.*, доктор мед. наук,  
профессор, Санкт-Петербург, Россия

*Фатхудинов Т.Х.*, доктор мед. наук,  
доцент, Москва, Россия

*Черников В.П.*, кандидат мед. наук,  
Москва, Россия

*Яглов В.В.*, доктор мед. наук, профессор,  
Москва, Россия

К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами редакции.

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

Перепечатка и любое воспроизведение материалов и иллюстраций в печатном или электронном виде из журнала «Клиническая и экспериментальная морфология» допускаются только с письменного разрешения издателя.

# CLINICAL AND EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL  
With the support of the Russian Society of Pathology

Volume 10 | No 3 | 2021

ISSN 2226-5988 (print)  
ISSN 2686-6749 (online)

## “Clinical and Experimental Morphology”

SCIENTIFIC AND PRACTICAL  
PEER-REVIEWED JOURNAL

Frequency: 4 issues per year

Founded in 2011

The journal is indexed in:  
Scopus;  
Russian Science Citation Index  
(RSCI);  
online platform of the Russian  
Science Citation Index database  
eLIBRARY.ru

The Journal is included  
in the current List of Scientific  
Journals of the Higher Attestation  
Commission of Russia  
(Vysshaya Attestatsionnaya  
Komissiya, VAK)

### Journal founder

FSBSI “A.P.Avtsyn Research  
Institute of Human Morphology”  
Tsyurupy st., 3,  
Moscow, 117418, Russia

### Editorial office address

Tsyurupy st., 3,  
Moscow, 117418, Russia

Tel. +7 (499) 120-13-34  
+7 (499) 128-87-01

e-mail: cem.journal@mail.ru

www.cem-journal.ru

Edition of 500 copies

Publisher  
“Gruppa MDV”  
www.mdv-group.ru

### Subscription index:

**70045** according  
to the “Ural-Press” catalog

**70045** according  
to the ARZI catalog

The mass media registration  
certificate ПИ № ФС77-47183  
dated November 2, 2011

© FSBSI “A.P. Avtsyn Research  
Institute of Human Morphology”

### Editor-in-chief

*Mikhaleva, Lyudmila M.*, Dr. Sci. Med., Professor

### Honorary editor-in-chief

*Kakturskiy, Lev V.*, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,  
Dr. Sci. Med., Professor

### Deputy editors-in-chief

*Zairatyants, Oleg V.*, Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

*Makarova, Olga V.*, Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

### Executive secretary

*Boltovskaya, Marina N.*, Dr. Sci. Biol., Professor, Moscow, Russia

### Editorial board

*Aleksandrova, Maria A.*, Dr. Sci. Biol.,  
Moscow, Russia

*Alekseeva, Natalia T.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Voronezh, Russia

*Andreeva, Elena R.*, Dr. Sci. Biol., Associate  
Professor, Moscow, Russia

*Banin, Victor V.*, Corresponding Member of the  
Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Moscow, Russia

*Bolshakova, Galina B.*, Dr. Sci. Biol.,  
Moscow, Russia

*Buravkov, Sergey V.*, Dr. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

*Chernyaev, Andrey L.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Moscow, Russia

*Garnovskaya, Maria N.*, Cand. Sci. Biol.,  
Associate Professor, Charleston, USA

*Kochukov, Mikhail Yu.*, Dr. Sci. Med.,  
Houston, USA

*Korshunov, Andrey G.*, Cand. Sci. Med.,  
Professor, Heidelberg, Germany

*Kovrigina, Alla M.*, Dr. Sci. Biol., Professor,  
Moscow, Russia

*Chernikov, Valeriy P.*, Cand. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

*Dorosevich, Alexandr E.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Smolensk, Russia

*Ermolaeva, Svetlana A.*, Dr. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

*Erofeeva, Lyudmila M.*, Dr. Sci. Biol.,  
Professor, Moscow, Russia

*Fatkhudinov, Timur Kh.*, Dr. Sci. Med.,  
Associate Professor, Moscow, Russia

*Kondashevskaya, Marina V.*, Dr. Sci. Biol.,  
Associate Professor, Moscow, Russia

*Kononov, Alexey V.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Omsk, Russia

*Kravtsov, Vladimir G.*, Cand. Sci. Med.,  
Tel Aviv, Israel

*Milovanov, Andrey P.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Moscow, Russia

*Kushlinsky, Nikolai E.*, Academician  
of the Russian Academy of Sciences,  
Dr. Sci. Med., Professor, Moscow, Russia

*Markov, Igor I.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Samara, Russia

*Nikityuk, Dmitriy B.*, Corresponding  
Member of the Russian Academy of Sciences,  
Dr. Sci. Med., Professor,  
Moscow, Russia

*Nikolenko, Vladimir N.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Moscow, Russia

*Paukov, Vyacheslav S.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Moscow, Russia

*Postnov, Anton Yu.*, Dr. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

*Rogov, Yuri I.*, Cand. Sci. Med., Associate  
Professor, Minsk, Republic of Belarus

*Ryzhova, Marina V.*, Dr. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

*Saveliev, Sergey V.*, Dr. Sci. Biol., Professor,  
Moscow, Russia

*Yaglova, Natalia V.*, Dr. Sci. Med.,  
Moscow, Russia

### Editorial review board

*Mishnev, Oleko D.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Moscow, Russia

*Mkhitarov, Vladimir A.*, Cand. Sci. Biol.,  
Moscow, Russia

*Novochadov, Valeriy V.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Volgograd, Russia

*Parkhomenko, Yuri G.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Moscow, Russia

*Rybakova, Margarita G.*, Dr. Sci. Med.,  
Professor, Saint Petersburg, Russia

*Voloshchuk, Irina N.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Moscow, Russia

*Voronin, Konstantin E.*, Dr. Sci. Med.,  
Associate Professor, Charleston, USA

*Yaglov, Valentin V.*, Dr. Sci. Med., Professor,  
Moscow, Russia

*Znoyko, Iya Yu.*, Cand. Sci. Biol.,  
Charleston, USA

Only articles prepared in accordance with the requirements of the editorial board are accepted for publication.  
The authors point of view may not coincide with that of the editorial board.

Reprinting and any reproduction of materials and illustrations in print or electronic form from the journal “Clinical and experimental morphology” are allowed only with the written permission of the publisher.

## ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ REVIEWS

Э.В. Кусраева, М.В. Самсонова,  
Н.В. Трушенко, Е.Л. Туманова  
Клинико-морфологическая характеристика  
гиперчувствительного пневмонита

5 E.V. Kusraeva, M.V. Samsonova,  
N.V. Trushenko, E.L. Tumanova  
Clinical and morphological characteristics  
of hypersensitivity pneumonitis

Д.С. Швороб, Т.И. Шевченко, Р.Б. Кондратюк  
Диагностика молекулярно-генетических  
подтипов колоректального рака с использованием  
иммуногистохимических методов исследования

14 D.S. Shvorob, T.I. Shevchenko, R.B. Kondratyuk  
Diagnosis of molecular subtypes of colorectal cancer  
using immunohistochemistry

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

Х.М. Ахриева, Е.А. Коган, А.С. Тertychniy,  
О.В. Зайратьянц, Л.С. Селиванова  
Оценка качества биопсийной морфологической  
диагностики воспалительных заболеваний  
кишечника по цифровым изображениям

21 Kh.M. Akhrieva, E.A. Kogan, A.S. Tertychniy,  
O.V. Zayratyants, L.S. Selivanova  
Quality assessment of the inflammatory bowel disease  
biopsy diagnosis using digital images

Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен  
Маркеры воспаления в слизистой оболочке носа  
и полипозно измененных тканях  
при полипозном риносинусите

29 D.G. Pavlush, I.V. Dyuzen  
Inflammatory markers in the nasal mucosa  
and polyp-modified tissues in chronic rhinosinusitis  
with nasal polyps

М.А. Гусниев, В.В. Печникова, С.А. Гусниев,  
М.Ю. Гушчин, З.В. Гюева, А.М. Пшихачев,  
Л.М. Михалева  
Клинико-морфологические особенности  
мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря,  
влияющие на рецидив заболевания

39 M.A. Gusniev, V.V. Pechnikova, S.A. Gusniev,  
M.Yu. Gushchin, Z.V. Gioeva, A.M. Pshikhachev,  
L.M. Mikhaleva  
Clinical and histological features of non-muscle  
invasive bladder cancer affecting tumor recurrence

*Л.В. Волкова, М.С. Шушвал*  
Морфологическая характеристика  
диспластических процессов в слизистой оболочке,  
прилежащей к опухоли,  
при раке желудка кишечного типа

47 *L.V. Volkova, M.S. Shushval*  
Morphological characteristics of dysplasia  
in the mucous membrane adjacent  
to the tumor in intestinal type gastric cancer

*Р.В. Деев, П.С. Еремин, И.А. Чекмарева, В.Г. Лебедев,  
Ю.Б. Дешевой, Т.А. Насонова, Б.Б. Мороз*  
Структурные и ультраструктурные особенности  
раннего повреждения тканей кожи  
при местном лучевом воздействии в высокой дозе

55 *R.V. Deev, P.S. Eremin, I.A. Chekmareva, V.G. Lebedev,  
Yu.B. Deshevoy, T.A. Nasonova, B.B. Moroz*  
Structural and ultrastructural features of early skin  
damage after local high-dose radiation exposure

*Д.Н. Воронков, Р.М. Худоев, Ю.В. Дикалова,  
А.В. Ставровская, А.С. Гущина, А.С. Ольшанский*  
Влияние L-альфа-аминоадипиновой кислоты  
на нейроны и глиальные клетки стриатума  
мозга крыс

65 *D.N. Voronkov, R.M. Khudoerkov, Yu.V. Dikalova,  
A.V. Stavrovskaya, A.S. Guschina, A.S. Olshanskiy*  
Effects of L-alpha-aminoadipic acid on neurons  
and glia of the rat brain striatum

## РЕЦЕНЗИИ BOOK REVIEWS

Рецензия на монографию  
«Общий канцерогенез. Теории-модели»  
О.И. Кит, А.В. Шапошников

74 Review on the monograph  
“General carcinogenesis. Model Theories”  
O. I. Kit, A. V. Shaposhnikov

## ЮБИЛЕИ ANNIVERSARIES

Ольга Васильевна Макарова  
(к 70-летию со дня рождения)

76 Olga Vasilevna Makarova  
on her 70th birthday

## Клинико-морфологическая характеристика гиперчувствительного пневмонита

*Э.В. Кусраева<sup>1</sup>, М.В. Самсонова<sup>2,4</sup>, Н.В. Трушенко<sup>3</sup>, Е.Л. Туманова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ Научно-исследовательский институт пульмонологии ФМБА России, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Москва, Россия

<sup>4</sup> ГБУЗ Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Гиперчувствительный пневмонит (ГП) является иммуноопосредованным заболеванием, которое проявляется у скомпрометированных лиц после воздействия провоцирующего ингаляционного фактора. В обзоре литературы приведена новая клинико-морфологическая классификация ГП, представлены современные данные по этиологии, эпидемиологии и патогенезу заболевания, клинической картине разных вариантов течения, нарушениям функции внешнего дыхания, изменениям картины КТ, клеточному составу жидкости бронхоальвеолярных смывов, современным подходам к лечению. Детально проанализированы морфологические критерии согласно новой классификации, что улучшает постановку диагноза патологоанатомами. С учетом того, что диагностика заболевания представляет значительные трудности, приведены гистологические критерии дифференциального диагноза фиброзного варианта ГП и обычной интерстициальной пневмонии (идиопатический легочный фиброз), саркоидоза, лимфоидной интерстициальной пневмонии, легочных проявлений системных заболеваний соединительной ткани.

**Ключевые слова:** гиперчувствительный пневмонит, интерстициальные заболевания легких

**Для корреспонденции:** Элина Валерьевна Кусраева. E-mail: elina.kusraeva@yandex.ru

**Для цитирования:** Кусраева Э.В., Самсонова М.В., Трушенко Н.В., Туманова Е.Л. Клинико-морфологическая характеристика гиперчувствительного пневмонита. Клинический экспериментальный морфология. 2021;10(3):5–13. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.5-13.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Статья поступила** 19.02.2021. **Получена после рецензирования** 22.03.2021. **Принята в печать** 21.04.2021.

## Clinical and morphological characteristics of hypersensitivity pneumonitis

*E. V. Kusraeva<sup>1</sup>, M. V. Samsonova<sup>2,4</sup>, N. V. Trushenko<sup>3</sup>, E. L. Tumanova<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pulmonology Scientific Research Institute under FMBA of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, Moscow, Russia

<sup>4</sup> A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

Hypersensitivity pneumonitis (HP) is an immune-mediated disease that manifests in susceptible individuals after exposure to a provoking inhalation factor. The literature review describes etiological factors of the disease, its epidemiology and pathogenesis, as well as clinical features of various disease courses. A new clinical and morphological classification of HP is also presented. We analyzed changes in functional tests (external respiration function), CT images, cellular components of bronchoalveolar lavages, and modern approaches to the disease treatment. The review includes detailed morphological criteria according to the new classification, which will facilitate the diagnosis by pathologists. Since the diagnosis of the condition presents significant challenges, there are histological criteria for differential diagnosis of the fibrotic HP and usual interstitial pneumonia (idiopathic pulmonary fibrosis), sarcoidosis, lymphoid interstitial pneumonia, and pulmonary manifestations of connective tissue diseases.

**Keywords:** hypersensitivity pneumonitis, interstitial lung diseases

**Corresponding author:** Elina V. Kusraeva. E-mail: elina.kusraeva@yandex.ru

**For citation:** Kusraeva E. V., Samsonova M. V., Trushenko N. V., Tumanova E. L. Clinical and morphological characteristics of hypersensitivity pneumonitis. *Clin. exp. morphology*. 2021;10(3):5–13. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.5-13 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 19.02.2021. **Received in revised form** 22.03.2021. **Accepted** 21.04.2021.

Гиперчувствительный пневмонит (гиперсенситивный пневмонит, экзогенный аллергический альвеолит) относится к иммунологически обусловленным заболеваниям, развивающимся в ответ на воздействие антигенов. Исторически выделяли острую, подострую и хроническую форму гиперчувствительного пневмонита (1983), однако, согласно последнему консенсусу американской, японской и латиноамериканской торакальных ассоциаций, гиперчувствительный пневмонит подразделяют на фиброзный и нефиброзный варианты [1].

### Этиология

Гиперчувствительный пневмонит (ГП) возникает при воздействии термофильных и других бактерий и продуктов их жизнедеятельности, грибов, животных белков, амёб, химических веществ, а также некоторых лекарственных препаратов, например человеческих моноклональных антител класса IgG1k, блокирующих биологическую активность ИЛ-12 и ИЛ-23 и предотвращающих связывание р40 с рецептором ИЛ-12R-β1, экспрессируемым на поверхности иммунных клеток. Так, A. Ali et al. [2] наблюдали развитие ГП у 61-летнего пациента после пятидневного подкожного введения указанного выше лекарственного препарата. Тем не менее в большинстве наблюдений, несмотря на тщательное собранный анамнез, провоцирующий антиген не удавалось определить у 60% пациентов [3]. Это подчеркивает сложность диагностики и необходимость мультидисциплинарного подхода при постановке данного диагноза.

Наиболее известными вариантами ГП являются болезнь фермеров, болезнь, связанная с холодным воздухом в помещениях с системами кондиционирования, болезнь легких у рабочих, занятых в химическом производстве, болезнь птицеводов [4], багассоз, индуцированный лекарственными препаратами [5]. В Японии описаны два наблюдения так называемого легкого ГП, возникшего у проживающей в деревянном доме супружеской пары из-за воздействия жаркой и влажной среды [6].

Однако не у всех людей, подвергающихся экспозиции антигена, в дальнейшем развивается заболевание – определенную роль играет еще и генетическая предрасположенность заболевших [7]. Молекулы МНС II типа (главного комплекса гистосовместимости II типа), являющиеся основным локусом чувствительности при ГП, определяют силу иммунного ответа, а также с повышенным риском развития заболевания связан полиморфизм генов *HLA-DRB1* и *HLA-DQB1* у пациента [8].

Полиморфизм промотора гена *MUC5B* (муцин 5B) у пациентов с ГП связан со снижением выживаемости, и он более распространен у имеющих фиброзный вариант ГП по сравнению с нефиброзным [9]. Исследования M. R. Hill et al. [10] и R. Janssen et al. [11], проведенные у пациентов с ГП разных этнических групп, показали, что варианты промотора гена тканевого ингибитора металлопротеиназы-3 (ТИМР-3) могут быть связаны со снижением риска развития ГП.

### Эпидемиология

Заболеваемость ГП составляет от 0,3 до 0,9 на 100 000 населения [12]. По данным F. Morell et al. [13], частота ГП равняется 6,2 на 100 000 у лиц, пользующихся перьевыми подушками, и 54,6 на 100 000 у птицеводов.

Среди всех интерстициальных заболеваний легких в Индии в 2012–2015 годах ГП был обнаружен в 513 из 1084 наблюдений (47,3%), причем причиной его возникновения в 48,1% стало использование в помещениях систем кондиционирования воздуха [14]. По данным S. Dhooira et al. [15], из 803 страдающих интерстициальными заболеваниями легких в период с 2015 по 2017 год ГП был выявлен в 10,7% наблюдений.

У детей ГП может составлять до 50% от всех редко встречающихся детских интерстициальных пневмоний [16, 17].

### Патогенез

Необходимое условие развития ГП – ингаляция антигенного материала определенных размеров в достаточной дозе и в течение определенного временного периода. Для того чтобы произошла депозиция антигена в мелких дыхательных путях и альвеолах, антиген должен иметь размеры менее 5 мкм, хотя возможно развитие заболевания и при абсорбции растворимых антигенов из частиц больших размеров, осевших в проксимальных отделах бронхиального дерева.

Ключевую роль в патогенезе заболевания играют процесс сенсибилизации к антигену и появление клинических симптомов после повторного воздействия антигена [18]. ГП справедливо считается иммунопатологическим заболеванием, в развитии которого ведущая роль принадлежит аллергическим реакциям 3-го и 4-го типа (по классификации Gell, Coombs, 1969). На ранних этапах развития заболевания основное значение имеют реакции 3-го типа (иммунокомплексные). Образование иммунных комплексов (ИК) происходит *in situ* в интерстиции при взаимодействии ингалируемого антигена и IgG. Локальные отложения ИК вызывает острое по-

вреждение интерстиция и альвеол, характеризующееся нейтрофильным альвеолитом и повышением сосудистой проницаемости. ИК ведут к активации системы комплемента и альвеолярных макрофагов. Активные компоненты комплемента повышают проницаемость сосудов (C3a) и оказывают хемотаксическое действие на нейтрофилы и макрофаги (C5a). Активированные нейтрофилы и макрофаги вырабатывают и высвобождают провоспалительные и токсичные продукты, такие как кислородные радикалы, гидролитические ферменты, производные арахидоновой кислоты, цитокины (такие как интерлейкин-1 – IL-1, фактор некроза опухоли  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ). Эти медиаторы приводят к повреждению и некрозу клеток и матричных компонентов интерстиция, усиливают острый воспалительный ответ организма и вызывают приток лимфоцитов и моноцитов, которые в дальнейшем поддерживают реакции гиперчувствительности замедленного типа. Иммунные реакции, опосредованные Т-лимфоцитами (4-й тип), включают CD4<sup>+</sup> Т-клеточную гиперчувствительность замедленного типа и CD8<sup>+</sup> Т-клеточную цитотоксичность. Реакции замедленного типа развиваются через 24–48 часов после экспозиции антигена. Цитокины, высвободившиеся в результате иммунокомплексного повреждения, особенно TNF- $\alpha$ , индуцируют экспрессию адгезивных молекул на клеточных мембранах лейкоцитов и эндотелиальных клеток, что значительно увеличивает последующую миграцию лимфоцитов и моноцитов в очаг воспаления. Отличительной особенностью реакций замедленного типа является активация макрофагов гамма-интерфероном, секретлируемым активированными лимфоцитами CD4<sup>+</sup>. Продолжающаяся антигенная стимуляция поддерживает развитие реакций замедленного типа и ведет к формированию гранулем и активации фибробластов ростовыми факторами и в итоге к избыточному синтезу коллагена и интерстициальному фиброзу [19].

### Иммунологические аспекты

У сенсибилизированных пациентов иммунный ответ после воздействия антигена формируется за счет гуморального и клеточного звеньев иммунитета с образованием антигенспецифических IgG и участием Т-хелперов 1 типа (Th1), соответственно [1]. Это приводит к формированию преимущественно лимфоцитарного воспалительного инфильтрата и гранулематозного воспаления [20, 21]. Некоторые данные свидетельствуют о том, что при ГП преобладает пул Th2-лимфоцитов над Th1 [22], а также апоптоз эпителиоцитов и повышенная активность фибробластов [23], что способствует развитию фиброза легких.

### Клиника

Исторически ГП был разделен на три варианта течения: острый, подострый и хронический. В последующем была предложена новая классификация ГП, чтобы решить некоторые фенотипические совпадения

между подострым и хроническим вариантами, разделившая заболевание на нефиброзный (воспалительный, острый, клеточный) и фиброзный (хронический) варианты ГП, поскольку наличие рентгенологического или гистопатологического фиброза является основным фактором прогноза дальнейшего течения заболевания, а также данные варианты отражают клинические проявления заболевания, различаются по исходам, выживаемости и лечению [24, 25].

Симптомами воспалительного (нефиброзного) ГП являются одышка, кашель, озноб, высокая температура, возникающие через 4–18 часов после воздействия антигена. Симптомы могут нарастать в течение нескольких часов или дней [20, 25]. При фиброзном варианте ГП возможно стертное течение заболевания. У пациентов появляются одышка, которая может усиливаться со временем, сухой кашель, недомогание, усталость, потеря аппетита [20, 25], что по клиническим проявлениям близко к другим интерстициальным заболеваниям легких (ИЗЛ), в частности идиопатическому легочному фиброзу (ИЛФ) [26]. Наиболее часто этот вариант развивается при повторяющемся и низкодозовом воздействии антигена [27].

Парадоксальна роль курения для пациентов с ГП, так как это заболевание реже развивается у курящих, чем у некурящих пациентов с одинаковым объемом экспозиции провоцирующего антигена [20]. Кроме того, курящие после экспозиции имеют более низкий уровень специфических антител [20], а также воздействие сигаретного дыма может уменьшить воспаление и пролиферацию лимфоцитов при нефиброзном варианте ГП [28]. Важно то, что если у курящего все-таки развивается ГП, то заболевание прогрессирует быстрее с развитием фиброзного варианта, чаще рецидивирует и характеризуется более низкой выживаемостью, так как длительное воздействие сигаретного дыма усиливает повреждающее действие провоцирующего заболевание агента [29].

По данным Li-Jing Wang et al. [30], пациенты с фиброзным вариантом были старше и чаще курили, у пациентов же с нефиброзным вариантом ГП нередко встречалась лихорадка. У пациентов с фиброзным ГП возбудитель преимущественно не был идентифицирован, по данным функции внешнего дыхания определялась более низкая жизненная емкость легких (ЖЕЛ), снижалась диффузионная способность легких и доля лимфоцитов в бронхоальвеолярном смыве (БАС) [31]. При хроническом течении заболевания могут возникать обострения в виде усиления одышки с появлением новых участков уплотнения по типу «матового стекла» при КТ легких, что является неблагоприятным прогностическим фактором для таких пациентов вплоть до возникновения дыхательной недостаточности и необходимости осуществления респираторной поддержки.

Пациенты с нефиброзным ГП имеют более благоприятный прогноз, нежели пациенты с фиброзным вариантом и тем более с частыми обострениями.

### Функция внешнего дыхания

У пациентов может наблюдаться гипоксемия, однако при умеренных изменениях ткани легких ее может и не быть. Изменения показателей при исследовании функции внешнего дыхания в таких случаях не являются ни специфическими, ни диагностическими, так как подобные изменения обнаруживаются при многих ИЗЛ [20]. Тем не менее фиброзный вариант ГП характеризуется снижением диффузионной способности легких ( $DL_{CO}$ ), хотя данная характеристика не является специфической для ГП [32]. Также по уровню форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) и  $DL_{CO}$  можно оценивать терапевтический эффект от приема глюкокортикостероидов – у пациентов с нефиброзным вариантом наблюдается повышение этих показателей, чего не происходит у пациентов с фиброзным ГП [31].

### Компьютерная томография легких

Нефибрный вариант по данным КТ легких характеризуется мультифокальными, диффузными и центрилобулярными участками уплотнения по типу «матового стекла», участками мозаичной плотности, «воздушными ловушками» при проведении исследования во время фазы выдоха и признаком *head cheese* (сочетание участков уплотнения по типу «матового стекла» и участков повышенной воздушности) [30, 33]. Участки мозаичной плотности чаще встречаются при ГП среди всех ИЗЛ, что делает этот признак диагностически значимым и говорит в пользу ГП при дифференциальном диагнозе [34].

Основные признаки фиброзного варианта – нарушение архитектоники, ретикулярные изменения, появление участков мозаичной плотности преимущественно в верхних и средних долях, тракционных бронхоэктазов, «сотого легкого» [30, 35]. Однако на поздних стадиях фиброзного ГП рентгенологическая картина может напоминать таковую при фиброзных вариантах неспецифической интерстициальной пневмонии (НСИП) или обычной интерстициальной пневмонии (ОИП), иногда в сочетании с признаком *head cheese*. Дифференциальный диагноз в таких случаях может представлять трудности, особенно при неидентифицированном этиологическом факторе [36, 37].

Более высокая выживаемость характерна для пациентов с участками мозаичной плотности на КТ легких [38], наличие же признака *head cheese* свидетельствует о прогрессировании заболевания и неблагоприятном прогнозе [39].

### Бронхоальвеолярный смыв

Показатели клеточного состава бронхоальвеолярного смыва являются высокочувствительными, но низкоспецифическими для диагностики ГП. Один из диагностических критериев – содержание лимфоцитов в БАС, но разные авторы приводят в своих исследованиях разные уровни. J. Morisset et al. [40] указывают на

пороговое значение более 40%, M.L. Salisbury et al. [24] рекомендуют в своей диагностической модели порог в 30%. При нефиброзном варианте ГП доля лимфоцитов в жидкости бронхоальвеолярного смыва в среднем выше (более 30–40%), чем при фиброзном (20% или даже нормальное число – у пациентов с рентгенологическим паттерном ОИП) [41, 42]. Также для разных вариантов ГП имеет значение преобладание различных субпопуляций лимфоцитов: более высокая доля  $CD8^+$  лимфоцитов была обнаружена у пациентов с нефиброзным вариантом ГП, которая снижалась после воздействия антигена, а доля лимфоцитов  $CD4^+$  преобладала при фиброзном варианте [22]. Фактически, цитограмма БАС диагностически значима только при нетипичной картине КТ для дифференциальной диагностики ГП и саркоидоза. При ГП отношение  $CD4^+/CD8^+$  составляет менее 1, а при саркоидозе – более 2 [43]. При дифференциальной диагностике фиброзного ГП и ИЛФ содержание лимфоцитов больше 30% в БАС свидетельствует в пользу диагноза «гиперчувствительный пневмонит» ГП [26].

### Патологическая анатомия

Золотым стандартом для забора материала для гистологического исследования является хирургическая биопсия легкого: именно она в отличие от трансbronхиальной биопсии позволяет получить необходимый объем ткани для уверенной постановки диагноза. Данные относительно трансbronхиальной криобиопсии накапливаются, в целом этот метод перспективен для диагностики ГП [44, 45].

По мнению P. Wang et al. [46], появление при ГП фибробластических фокусов или диффузный зрелый коллагеновый фиброз являются предикторами тяжелого прогрессирующего течения заболевания и раньше приводят к летальному исходу. Такого же мнения придерживаются S. Hanzawa et al. [47], описавшие фиброзный вариант ГП у птицеведа, прогрессирующее течение заболевания у которого потребовало трансплантации легких через 8 лет после постановки диагноза.

Согласно последнему консенсусу [1], для нефиброзного фенотипа выделяют следующие морфологические признаки: бронхиолоцентрическая клеточная интерстициальная пневмония, клеточный хронический бронхолит, гранулематозное воспаление. Гранулемы при ГП обычно представляют собой нечетко ограниченные скопления эпителиоидных и гигантских многоядерных клеток, которые, как правило, расположены перибронхиолярно. Вне гранулем также могут встречаться отдельно лежащие гигантские многоядерные клетки, часто содержащие неспецифические цитоплазматические включения, такие как тельца Шаумана, астероидные тела или кристаллы холестерина; в фокусах организующейся пневмонии могут встречаться тельца Массона.

Для фиброзного варианта ГП характерно нарушение архитектоники легкого с наличием центриацинарного

фиброза. Фиброз охватывает как субплевральные, так и центроацинарные области [48]. Для верной постановки диагноза необходимо обнаружение гранулем и/или гигантских многоядерных клеток. Тем не менее при прогрессировании фиброза это представляет большие сложности.

Гистологические критерии консенсуса по ГП 2020 года приведены в таблице.

Диагноз «гиперчувствительный пневмонит» преимущественно основан на установлении воздействия внешнего фактора, типичных для заболевания изменений на картине КТ легких и гистопатологических

Таблица | Table

Критерии постановки диагноза гиперсенситивного пневмонита |  
Criteria for the HP diagnosis

НФГП (нефиброзный вариант ГП)   Non-fibrotic HP (nfHP)	Вероятный диагноз НФГП   Probable nfHP	Неопределенные для НФГП признаки   Indeterminate features for nfHP
Все три признака хотя бы на одном участке биоптата   Typical histopathological features of nfHP; at least one biopsy site showing all three of the following features	Оба признака, первый и второй хотя бы на одном участке биоптата   Both of the following features (the first and the second from the first column) at least at one biopsy site	Один из признаков хотя бы на одном участке биоптата   At least one biopsy site demonstrating one of the following features
1. Клеточная интерстициальная пневмония   Cellular interstitial pneumonia • бронхиолоцентрическая   bronchiolocentric (airway-centered) • с преобладанием лимфоцитов   lymphocyte-predominant	1. Клеточная интерстициальная пневмония   Cellular interstitial pneumonia • бронхиолоцентрическая   bronchiolocentric (airway-centered) • с преобладанием лимфоцитов   lymphocyte-predominant	1. Клеточная НСИП   Cellular non-specific interstitial pneumonia (NSIP) pattern 2. Организующаяся пневмония   Organizing pneumonia (OP) 3. Перибронхиолярная метаплазия без других признаков, указывающих на ФГП   Peribronchiolar metaplasia without other features suggesting fibrotic HP
2. Клеточный бронхиолит   Cellular bronchiolitis лимфоциты > плазмциты   lymphocyte-predominant (lymphocytes > plasma cells) • ± организующаяся пневмония с тельцами Массона   ± OP with Masson bodies • ± пенистые макрофаги   ± foamy macrophages in terminal air spaces	2. Клеточный бронхиолит   Cellular bronchiolitis • лимфоциты > плазмциты   lymphocyte > predominant (lymphocytes > plasma cells) • ± организующаяся пневмония с тельцами Массона   ± OP with Masson bodies • ± пенистые макрофаги   ± foamy macrophages in terminal air spaces	Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза, хотя бы на одном участке биоптата   Absence of features suggesting an alternative diagnosis at least at one biopsy site
3. Нечетко очерченные гранулемы   Poorly formed non-necrotizing granulomas • эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки   loose clusters of epithelioid cells and/or multinucleated giant cells • ± интрацитоплазматические включения в перибронхиолярном интерстиции, терминальных бронхиолах   ± intracytoplasmic inclusions in peribronchiolar interstitium, terminal air spaces • ± организующаяся пневмония   OP	Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза, хотя бы на одном участке биоптата   absence of features suggesting an alternative diagnosis at least at one biopsy site	
Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза   absence of features suggesting an alternative diagnosis at any biopsy site • плазмциты > лимфоциты   plasma cells > lymphocytes • выраженная лимфоидная гиперплазия   extensive lymphoid hyperplasia • четко очерченные / некротические гранулемы   extensive well-defined sarcoidal granulomas and / or necrotizing granulomas		

ФГП (фиброзный вариант ГП)   Fibrotic HP (fHP)	Вероятный диагноз ФГП   Probable fHP	Неопределенные для ФГП признаки   Indeterminate for fHP
Типичные признаки ФГП, один или два и три хотя бы на одном участке биоптата   Typical histopathological fHP features; 1 or 2 and 3 at least at one biopsy site	Оба признака, один и два хотя бы на одном участке биоптата   One, two, or both features at least at one biopsy site at least at one biopsy site	Один из признаков хотя бы на одном участке биоптата   At least one biopsy site demonstrating one of the following features
1. Хроническая интерстициальная пневмония   Chronic fibrosing interstitial pneumonia • нарушение архитектоники, фибробластические фокусы ± «соты»   architectural distortion, fibroblast foci ± subpleural honeycombing • паттерн фиброзной НСИП   fibrotic NSIP-like pattern	1. Хроническая интерстициальная пневмония   Chronic fibrosing interstitial pneumonia • нарушение архитектоники, фибробластические фокусы ± «соты»   architectural distortion, fibroblast foci ± subpleural honeycombing • паттерн фиброзной НСИП   fibrotic NSIP-like pattern	1. Хроническая интерстициальная пневмония   Chronic fibrosing interstitial pneumonia • нарушение архитектоники, фибробластические фокусы ± «соты»   architectural distortion, fibroblast foci ± subpleural honeycombing • паттерн фиброзной НСИП   fibrotic NSIP-like pattern
2. Бронхоцентрический фиброз   Airway-centered fibrosis • ± перибронхиолярная метаплазия   ± peribronchiolar metaplasia • ± «мостовой» фиброз   ± bridging fibrosis	2. Бронхоцентрический фиброз   Airway-centered fibrosis • ± перибронхиолярная метаплазия   ± peribronchiolar metaplasia • ± «мостовой» фиброз   ± bridging fibrosis	• ± клеточная интерстициальная пневмония   ± cellular interstitial pneumonia • ± клеточный бронхиолит   ± cellular bronchiolitis • ± организующаяся пневмония   ± OP
3. Нечетко очерченные гранулемы   Poorly formed non-necrotizing granulomas • ± клеточная интерстициальная пневмония   ± cellular interstitial pneumonia • ± клеточный бронхиолит   ± cellular bronchiolitis • ± организующаяся пневмония   ± OP	• ± клеточная интерстициальная пневмония   ± cellular interstitial pneumonia • ± клеточный бронхиолит   ± cellular bronchiolitis • ± организующаяся пневмония   ± OP	Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза, хотя бы на одном участке биоптата   Absence of features suggesting an alternative diagnosis at least at one biopsy site
Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза   Absence of features suggesting an alternative diagnosis at least at one biopsy site • плазмоциты > лимфоциты   plasma cells > lymphocytes • выраженная лимфоидная гиперплазия   extensive lymphoid hyperplasia • четко очерченные / некротические гранулемы   extensive well-defined sarcoidal granulomas and / or necrotizing granulomas	Отсутствие признаков, характерных для альтернативного диагноза, хотя бы на одном участке биоптата   absence of features suggesting an alternative diagnosis at least at one biopsy site	

признаках. Главная проблема заключается в том, что ни один индивидуальный признак не является достаточным в отдельности и не обязателен. Это приводит к возможности множественных комбинаций признаков, которые способствуют правильной диагностике ГП [1].

Гистологические изменения, характерные для ГП, также следует дифференцировать с другими интерстициальными заболеваниями.

При дифференциальной диагностике с лимфоидной интерстициальной пневмонией необходимо учитывать, что при последней не бывает облитерирующего бронхиолита, а лимфоидная инфильтрация чаще диффузная или в виде лимфоидных скоплений и фолликулов

с герминативными центрами, а не перибронхиолярная, как при ГП.

Для саркоидоза более характерен вид гранул, четко очерченных тонким венчиком соединительной ткани, при ГП гранулемы рыхлые, в большей степени гистиоцитарные с примесью плазматических клеток.

В работе A. Churg et al. [49] при анализе двумя экспертами биопсийного материала от 16 пациентов с фиброзным ГП и 12 пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани (СЗСТ), имеющих интерстициальный фиброз, было показано, что лимфоидные скопления и фолликулы с герминативными центрами выявлялись у семи из 12 пациентов с СЗСТ, перибронхиальные лимфоидные скопления с плазма-

тическими клетками в 3 раза чаще обнаруживали при СЗСТ, в зонах перибронхиолярного фиброза метаплазия (пролиферация) гладких мышц выявлялась у 12 из 16 пациентов с ГП. Число фибробластических фокусов на площадь среза, их расположение, наличие фиброза, присутствие гигантских многоядерных клеток и гранулем, соотношение числа лимфоцитов и эозинофилов не имеют дифференциально-диагностической значимости для различения ГП и СЗСТ [49].

### Лечение

Прекращение экспозиции провоцирующего антигена – первый этап в лечении ГП, причем это эффективнее для нефиброзного варианта, при котором еще не развились необратимые изменения (фиброз) в ткани легких, чем для фиброзного варианта [26]. При лекарственной терапии преимущественно используют системные глюкокортикостероиды, хотя их долгосрочная эффективность не была доказана [20].

Тем не менее даже при исключении провоцирующего антигена из окружающей обстановки пациента фиброз может прогрессировать. По этой причине при лечении используют глюкокортикостероиды, оказывающие иммунодепрессивное действие. С другой стороны, многие исследования подтверждают, что кортикостероиды наиболее эффективны при нефиброзном варианте ГП, так как патогенетически основную роль при этом варианте играет воспаление (лекарственные препараты группы глюкокортикостероидов оказывают противовоспалительное действие, влияя на все фазы воспаления), а вот при фиброзном варианте эффективность терапии кортикостероидами мала [31]. У пациентов с фиброзным ГП, особенно с прогрессирующим течением заболевания, могут рассматриваться для назначения иммуносупрессоры, такие как микофенолата мофетил и азатиоприн [40]. В настоящее время в терапии заболеваний легких с прогрессирующим фиброзом показано использование антифибротических средств. Препарат данной группы нинтеданиба этансульфонат блокирует рецепторы фактора роста фибробластов 1–3 (FGFR 1–3), тем самым предотвращая дальнейшее развитие фиброза [50].

### Заключение

Гиперчувствительный пневмонит – заболевание с крайне разнообразными клиническими проявлениями и вариабельностью морфологической картины и изменений на КТ. В связи с этим необходимо тщательно анализировать анамнестические данные пациентов, обращать внимание на условия их жизни и профессию. Наряду с этим при постановке диагноза, безусловно, необходим мультидисциплинарный подход с привлечением пульмонологов, рентгенологов, специалистов по функциональной диагностике и патологоанатомов. Для заболеваний, схожих с гиперчувствительным пневмонитом, а именно саркоидоза, лимфоидной интерстициальной пневмонии, легочных проявлений при

системных заболеваниях соединительной ткани, обычной интерстициальной пневмонии (идиопатического легочного фиброза) дифференциально-диагностический подход особенно важен.

### Литература/References

1. *Raghu G, Remy-Jardin M, Ryerson CJ, Myers JL, Kreuter M, Vasakova M et al.* Diagnosis of hypersensitivity pneumonitis in adults. An Official ATS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(3):e36–e69. DOI: 10.1164/rccm.202005-2032ST.
2. *Ali A, Chertoff J, Harden C, Wakefield D, Wynne J.* Stop being so sensitive: An exceptionally rare report of ustekinumab-induced sub-acute hypersensitivity pneumonitis. *Turk J Anaesthesiol Reanim.* 2017;45(5):313–7. DOI: 10.5152/TJAR.2017.31967.
3. *Hanak V, Golbin JM, Ryu JH.* Causes and presenting features in 85 consecutive patients with hypersensitivity pneumonitis. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(7):812–6. DOI: 10.4065/82.7.812.
4. *Mikumo H, Yanagihara T, Hamada N, Hashisako M, Ijichi K, Suzuki K et al.* An autopsy case of bird-related chronic hypersensitivity pneumonitis presenting with repeated acute exacerbation. *Respir Med Case Rep.* 2018;24:92–4. DOI: 10.1016/j.rmcr.2018.04.016.
5. *Roden AC, Camus P.* Iatrogenic pulmonary lesions. *Semin Diagn Pathol.* 2018;35(4):260–71. DOI: 10.1053/j.semdp.2018.03.002.
6. *Nakajima A, Saraya T, Mori T, Ikeda R, Sugita T, Watanabe T et al.* Familial summer-type hypersensitivity pneumonitis in Japan: Two case reports and review of the literature. *BMC Res Notes.* 2013;6:371. DOI: 10.1186/1756-0500-6-371.
7. *Aquino-Galvez A, Camarena A, Montaño M, Juárez A, Zamora AC, González-Avila G et al.* Transporter associated with antigen processing (TAP) 1 gene polymorphisms in patients with hypersensitivity pneumonitis. *Exp Mol Pathol.* 2008;84(2):173–7. DOI: 10.1016/j.yexmp.2008.01.002.
8. *Camarena A, Juárez A, Mejía M, Estrada A, Carrillo G, Falfán R et al.* Major histocompatibility complex and tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(7):1528–33. DOI: 10.1164/ajrccm.163.7.2004023.
9. *Ley B, Newton CA, Arnould I, Elicker BM, Henry TS, Vittinghoff E et al.* The MUC5B promoter polymorphism and telomere length in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis: An observational cohort-control study. *Lancet Respir Med.* 2017;5(8):639–47. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30216-3.
10. *Hill MR, Briggs L, Montaño MM, Estrada A, Laurent GJ, Selman M et al.* Promoter variants in tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) protect against susceptibility in pigeon breeders' disease. *Thorax.* 2004;59(7):586–90. DOI: 10.1136/thx.2003.012690.
11. *Janssen R, Kruit A, Grutters JC, Ruven HJ, van Moorsel CM, van den Bosch JM.* TIMP-3 promoter gene polymorphisms in BFL. *Thorax.* 2005;60(11):974. DOI: 10.1136/thx.2005.046581.
12. *Fernández Pérez ER, Kong AM, Raimundo K, Koelsch TL, Kulkarni R, Cole AL.* Epidemiology of hypersensitivity pneumonitis among an insured population in the United States: A claims-based cohort analysis. *Ann Am Thorac Soc.* 2018;15(4):460–9. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201704-288OC.

13. Morell F, Villar A, Ojanguren I, Muñoz X, Cruz MJ, Sansano I et al. Hypersensitivity pneumonitis and (idiopathic) pulmonary fibrosis due to feather duvets and pillows. Arch Bronconeumol. 2021;57(2):87–93. DOI: 10.1016/j.arbres.2019.12.003.
14. Singh S, Collins BF, Sharma BB, Joshi JM, Talwar D, Katiyar S et al. Interstitial lung disease in India. Results of a prospective registry. Am J Respir Crit Care Med. 2017;195(6):801–13. DOI: 10.1164/rccm.201607-1484OC.
15. Dhooria S, Agarwal R, Sehgal IS, Prasad KT, Garg M, Bal A et al. Spectrum of interstitial lung diseases at a tertiary center in a developing country: A study of 803 subjects. PLoS One. 2018;13(2):e0191938. DOI: 10.1371/journal.pone.0191938.
16. Xaubert A, Ancochea J, Morell F, Rodriguez-Arias JM, Vil-lena V, Blanquer R et al. Report on the incidence of interstitial lung diseases in Spain. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 2004;21(1):64–70. PMID: 15127977.
17. Alhamad EH. Interstitial lung diseases in Saudi Arabia: A single-center study. Ann Thorac Med. 2013;8(1):33–7. DOI: 10.4103/1817-1737.105717.
18. Johansson E, Boivin GP, Yadav JS. Early immunopathological events in acute model of mycobacterial hypersensitivity pneumonitis in mice. J Immunotoxicol. 2017;14(1):77–88. DOI: 10.1080/1547691X.2016.1273284.
19. Авдеева О.Е., Авдеев С.Н., Чучалин А.Г. Экзогенный аллергический альвеолит. Русский медицинский журнал. 1997;17:6. Avdeeva OYe, Avdeev SN, Chuchalin AG. Extrinsic allergic alveolitis. Russian Medical Journal. 1997;17:6 (In Russ.).
20. Selman M, Pardo A, King TE Jr. Hypersensitivity pneumonitis: Insights in diagnosis and pathobiology. Am J Respir Crit Care Med. 2012;186(4):314–24. DOI: 10.1164/rccm.201203-0513CI.
21. Vasakova M, Selman M, Morell F, Sterclova M, Molina-Molina M, Raghu G. Hypersensitivity pneumonitis: Current concepts of pathogenesis and potential targets for treatment. Am J Respir Crit Care Med. 2019;200(3):301–8. DOI: 10.1164/rccm.201903-0541PP.
22. Barrera L, Mendoza F, Zuñiga J, Estrada A, Zamora AC, Melendro EI et al. Functional diversity of T-cell subpopulations in subacute and chronic hypersensitivity pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med. 2008;177(1):44–55. DOI: 10.1164/rccm.200701-093OC.
23. García de Alba C, Buendia-Roldán I, Salgado A, Becerril C, Ramírez R, González Y et al. Fibrocytes contribute to inflammation and fibrosis in chronic hypersensitivity pneumonitis through paracrine effects. Am J Respir Crit Care Med. 2015;191(4):427–36. DOI: 10.1164/rccm.201407-1334OC.
24. Salisbury ML, Myers JL, Belloli EA, Kazerooni EA, Martinez FJ, Flaherty KR. Diagnosis and treatment of fibrotic hypersensitivity pneumonia. Where we stand and where we need to go. Am J Respir Crit Care Med. 2017;196(6):690–9. DOI: 10.1164/rccm.201608-1675PP.
25. Vasakova M, Morell F, Walsh S, Leslie K, Raghu G. Hypersensitivity pneumonitis: Perspectives in diagnosis and management. Am J Respir Crit Care Med. 2017;196(6):680–9. DOI: 10.1164/rccm.201611-2201PP.
26. Leone PM, Richeldi L. Current diagnosis and management of hypersensitivity pneumonitis. Tuberc Respir Dis (Seoul). 2020;83(2):122–31. DOI: 10.4046/trd.2020.0012.
27. Cottin V, Hirani NA, Hotchkiss DL, Nambiar AM, Ogura T, Otaola M et al. Presentation, diagnosis and clinical course of the spectrum of progressive-fibrosing interstitial lung diseases. Eur Respir Rev. 2018;27(150):180076. DOI: 10.1183/16000617.0076-2018.
28. Furuiye M, Miyake S, Miyazaki Y, Ohtani Y, Inase N, Umino T et al. Effect of cigarette smoking on the development of murine chronic pigeon breeder's lung. The difference between a short-term and a long-term exposure. J Med Dent Sci. 2007;54(1):87–95. PMID: 19845140.
29. Churg A, Sin DD, Everett D, Brown K, Cool C. Pathologic patterns and survival in chronic hypersensitivity pneumonitis. Am J Surg Pathol. 2009;33(12):1765–70. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181bb2538.
30. Wang LJ, Cai HR, Xiao YL, Wang Y, Cao MS. Clinical characteristics and outcomes of hypersensitivity pneumonitis: A population-based study in China. Chin Med J (Engl). 2019;132(11):1283–92. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000256.
31. De Sadeleer LJ, Hermans F, De Dycker E, Yserbyt J, Verschakelen JA, Verbeken EK et al. Effects of corticosteroid treatment and antigen avoidance in a large hypersensitivity pneumonitis cohort: A single-centre cohort study. J Clin Med. 2018;8(1):14. DOI: 10.3390/jcm8010014.
32. Riario Sforza GG, Marinou A. Hypersensitivity pneumonitis: a complex lung disease. Clin Mol Allergy. 2017;15:6. DOI: 10.1186/s12948-017-0062-7.
33. Chong BJ, Kanne JP, Chung JH. Headcheese sign. J Thorac Imaging. 2014;29(1):W13. DOI: 10.1097/RTI.0000000000000067.
34. Kligerman SJ, Henry T, Lin CT, Franks TJ, Galvin JR. Mosaic attenuation: etiology, methods of differentiation, and pitfalls. Radiographics. 2015;35(5):1360–80. DOI: 10.1148/rg.2015140308.
35. Dias OM, Baldi BG, Pennati F, Aliverti A, Chate RC, Sawamura MVY et al. Computed tomography in hypersensitivity pneumonitis: Main findings, differential diagnosis and pitfalls. Expert Rev Respir Med. 2018;12(1):5–13. DOI: 10.1080/17476348.2018.1395282.
36. Silva CI, Müller NL, Lynch DA, Curran-Everett D, Brown KK, Lee KS et al. Chronic hypersensitivity pneumonitis: differentiation from idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia by using thin-section CT. Radiology. 2008;246(1):288–97. DOI: 10.1148/radiol.2453061881.
37. Barnett J, Molyneaux PL, Rawal B, Abdullah R, Hare SS, Vancheeswaran R et al. Variable utility of mosaic attenuation to distinguish fibrotic hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Respir J. 2019;54(1):1900531. DOI: 10.1183/13993003.00531-2019.
38. Chung JH, Zhan X, Cao M, Koelsch TL, Manjarres DCG, Brown KK et al. Presence of air trapping and mosaic attenuation on chest computed tomography predicts survival in chronic hypersensitivity pneumonitis. Ann Am Thorac Soc. 2017;14(10):1533–8. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201701-035OC.
39. Salisbury ML, Gu T, Murray S, Gross BH, Chughtai A, Sayyoush M et al. Hypersensitivity pneumonitis: Radiologic phenotypes are

- associated with distinct survival time and pulmonary function trajectory. *Chest*. 2019;155(4):699–711. DOI: 10.1016/j.chest.2018.08.1076.
40. *Morisset J, Johansson KA, Vittinghoff E, Aravena C, Elicker BM, Jones KD et al.* Use of mycophenolate mofetil or azathioprine for the management of chronic hypersensitivity pneumonitis. *Chest*. 2017;151(3):619–25. DOI: 10.1016/j.chest.2016.10.029.
  41. *Ohtani Y, Saiki S, Kitaichi M, Usui Y, Inase N, Costabel U et al.* Chronic bird fancier's lung: histopathological and clinical correlation. An application of the 2002 ATS/ERS consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax*. 2005;60(8):665–71. DOI: 10.1136/thx.2004.027326.
  42. *Santos V, Martins N, Sousa C, Jacob M, Padrão E, Melo N et al.* Hypersensitivity pneumonitis: Main features characterization in a Portuguese cohort. *Pulmonology*. 2020;26(3):130–7. DOI: 10.1016/j.pulmoe.2019.09.004.
  43. *Kebbe J, Abdo T.* Interstitial lung disease: The diagnostic role of bronchoscopy. *J Thorac Dis*. 2017;9(Suppl 10):S996–1010. DOI: 10.21037/jtd.2017.06.39.
  44. *Myers JL.* Hypersensitivity pneumonia: The role of lung biopsy in diagnosis and management. *Mod Pathol*. 2012;25(Suppl 1):S58–67. DOI: 10.1038/modpathol.2011.152.
  45. *Mooney JJ, Koth LL.* Surgical lung biopsy over bronchoalveolar lavage in chronic hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(3):371–2. DOI: 10.1164/rccm.201309-1736LE.
  46. *Wang P, Jones KD, Urisman A, Elicker BM, Urbania T, Johansson KA et al.* Pathologic findings and prognosis in a large prospective cohort of chronic hypersensitivity pneumonitis. *Chest*. 2017;152(3):502–9. DOI: 10.1016/j.chest.2017.02.011.
  47. *Hanzawa S, Tateishi T, Takemura T, Okada Y, Yamada Y, Noda M et al.* The analysis of surgical lung biopsy and explanted lung specimens sheds light on the pathological progression of chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. *Intern Med*. 2019;58(8):1145–50. DOI: 10.2169/internalmedicine.1142-18.
  48. *Chiba S, Tsuchiya K, Akashi T, Ishizuka M, Okamoto T, Furu-sawa H et al.* Chronic hypersensitivity pneumonitis with a usual interstitial pneumonia-like pattern: Correlation between histopathologic and clinical findings. *Chest*. 2016;149(6):1473–81. DOI: 10.1016/j.chest.2015.12.030.
  49. *Churg A, Wright JL, Ryerson CJ.* Pathologic separation of chronic hypersensitivity pneumonitis from fibrotic connective tissue disease-associated interstitial lung disease. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(10):1403–9. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000885.
  50. *Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SLF, Inoue Y et al.* INBUILD Trial Investigators. Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases. *N Engl J Med*. 2019;381(18):1718–27. DOI: 10.1056/NEJMoa1908681.

### Информация об авторах

Элина Валерьевна Кусраева – ординатор кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Мария Викторовна Самсонова – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией патологической анатомии НИИ пульмонологии, старший научный сотрудник патоморфологического отделения Московского клинического научно-практического центра имени А.С. Логинова.

Наталья Владимировна Трушенко – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры пульмонологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), научный сотрудник НИИ пульмонологии.

Елена Леонидовна Туманова – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии и клинической патологической анатомии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

### Author information

Elina V. Kusraeva – Resident of the Pathology and Clinical Pathology Department, Pediatric Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-1179-6070>

Maria V. Samsonova – Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathological Anatomical Laboratory, Pulmonology Scientific Research Institute; Senior Researcher, Pathomorphology Department, A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center.

<https://orcid.org/0000-0001-8170-1260>

Natalya V. Trushenko – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Pulmonology, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Researcher, Pulmonology Scientific Research Institute.

<https://orcid.org/0000-0002-0685-4133>

Elena L. Tumanova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Pathology and Clinical Pathology Department, Pediatric Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-1149-4061>

## Диагностика молекулярно-генетических подтипов колоректального рака с использованием иммуногистохимических методов исследования

*Д.С. Швороб, Т.И. Шевченко, Р.Б. Кондратюк*

ГОО ВПО Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького, Донецк

Колоректальный рак занимает третье место в структуре заболеваемости среди всех злокачественных новообразований и включает в себя спорадические и наследственно детерминированные случаи. Секвенирование генома опухоли выявило многочисленные варианты мутаций, которые определяют путь прогрессирования колоректального рака. В зависимости от имеющегося молекулярно-генетического подтипа опухоли сильно варьируют течение и прогноз заболевания, меняется тактика лечения. В данной работе представлены актуальные сведения о возможных путях онкогенеза колоректального рака и созданная на их основе классификация фенотипических моделей. В вопросе определения индивидуальных характеристик опухоли предлагается использовать иммуногистохимический метод исследования. Даны разъяснения по панели Bethesda, используемой для определения микросателлитной нестабильности, маркерам для определения синдрома Линча, а также перечню иммуногистохимических маркеров для определения фенотипической модели колоректального рака.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, фенотипические модели, согласованные молекулярные подтипы (CMS), иммуногистохимия, панель Bethesda, синдром Линча

**Для корреспонденции:** Данил Сергеевич Швороб. E-mail: mcshady@mail.ru

**Для цитирования:** Швороб Д.С., Шевченко Т.И., Кондратюк Р.Б. Диагностика молекулярно-генетических подтипов колоректального рака с использованием иммуногистохимических методов исследования. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):14–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.14-20.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 08.04.2021. Получена после рецензирования 12.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Diagnosis of molecular subtypes of colorectal cancer using immunohistochemistry

*D.S. Shvorob, T.I. Shevchenko, R.B. Kondratyuk*

M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

Colorectal cancer ranks third in the morbidity structure among all malignant tumors and includes sporadic and hereditary neoplasms. Cancer genome sequencing has revealed numerous mutation variants that determine the ways colorectal carcinoma progresses. The course, prognosis, and management strategy of the disease vary greatly depending on the subtype of a molecular tumor. This literature review discusses the latest data on the variants of colorectal cancer oncogenesis and presents the phenotypic model classification based on them. Immunohistochemistry (IHC) is suggested for determining the individual tumor characteristics. The article also clarifies the Bethesda panel used to detect microsatellite instability, markers for Lynch syndrome, and a list of IHC markers for determining the phenotypic model of colorectal carcinoma.

**Keywords:** colorectal cancer, phenotypic models, consensus molecular subtypes (CMS), immunohistochemistry, Bethesda panel, Lynch syndrome

**Corresponding author:** Danil S. Shvorob. E-mail: mcshady@mail.ru

**For citation:** Shvorob D.S., Shevchenko T.I., Kondratyuk R.B. Diagnosis of molecular subtypes of colorectal cancer using immunohistochemistry. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):14–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.14-20 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 08.04.2021. **Received in revised form** 12.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

## Введение

Колоректальный рак – это злокачественное новообразование, инвазивно растущее за пределы слизистой оболочки толстой кишки. В структуре заболеваемости среди всех злокачественных новообразований данная патология занимает ведущую роль, являясь третьим по распространенности видом рака у мужчин (уступает раку легкого и раку предстательной железы) и вторым по частоте у женщин (после рака молочной железы). По данным Всемирной организации здравоохранения, за 2019 год было зафиксировано 1,8 миллиона случаев заболевания колоректальным раком и 880 тысяч смертей. Данная патология в соотношении 3:2 чаще встречается у мужчин, а средний возраст пациентов составляет 62 года. Около 90% всех случаев спорадические, в то время как оставшаяся часть наследственно детерминирована, встречается у людей среднего возраста и связана с такими состояниями, как семейный аденоматозный полипоз, язвенный колит, болезнь Крона и синдром Линча [1, 2].

## Этиология

Колоректальный рак – полиэтиологическое заболевание. К предрасполагающим факторам развития относят особенности рациона питания и образа жизни человека. В частности, животные жиры, мясо и микронутриенты, а также сидячий образ жизни, курение и употребление алкоголя увеличивают риск развития рака толстой кишки. Напротив, повышенное потребление фруктов, овощей, цельнозерновых продуктов, кальция и витамина D, а также физические упражнения, способствуя ускорению перистальтики кишечника, нормализуют стул и защищают от развития колоректального рака [3, 4].

К предрасполагающим состояниям относят различные синдромы полипоза толстой кишки – семейный аденоматозный полипоз, синдром Линча, ювенильный полипоз и синдром Пейтца–Егерса, а также воспалительные заболевания кишечника, такие как язвенный колит и болезнь Крона [5]. С риском возникновения колоректального рака также связано состояние после радиотерапии области малого таза пациентов с опухолями других локализаций – шейки матки, мочевого пузыря, предстательной железы [6]. Состояние после холецистэктомии также коррелирует с увеличением частоты развития рака толстой кишки, в среднем в 1,7 раза, что, вероятно, связано с постоянным, а не порционным поступлением в просвет кишечника желчных кислот и нейтральных жиров [7].

К предраковым состояниям относят любое изменение в слизистой оболочке толстой кишки, морфологически сопровождающееся дисплазией и характеризующееся как неопластическая пролиферация эпителия. Дисплазия инициируется серией мутаций в онкогенах и генах-супрессорах, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и гибель клеток, что в некоторых случаях может привести к появлению злокачественного новообразования [8, 9].

## Варианты развития колоректального рака

Секвенирование генома опухоли выявило многочисленные мутации, которые участвуют в прогрессировании колоректального рака. По их числу новообразования разделяют на типичные – около 60 мутаций и гипермутабельные – около 700 мутаций. Подавляющее число гипермутабельных опухолей обладает высокой степенью микросателлитной нестабильности (MSI-H). Сегодня известно три пути развития колоректального рака. Первый – путь хромосомной нестабильности (CIN), на который приходится до 80% всех случаев. CIN характеризуется дисфункцией генов, контролирующих процесс деления, в частности *APC*, *TP53*, *KRAS*. В результате наблюдается быстрое деление клеток с потерей целых хромосом или их частей, что приводит к кариотипической изменчивости и грубым хромосомным аномалиям. Второй – путь микросателлитной нестабильности (MSI), на него приходится около 15% всех случаев, из них 85% спорадические, а оставшиеся 15% наследственно приобретенные и проявляющиеся в совокупности синдрома Линча. Микросателлиты – это нуклеотидные последовательности, которые встречаются в некодирующих областях ДНК и склонны к ошибкам репликации. Ферменты репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (MMR) в норме такие ошибки исправляют. MSI характеризуется дефектной репарацией ДНК из-за аномалии генов *MMR*. MSI спорадические опухоли характеризуются мутацией *APC* и *BRAF*, гена – регулятора роста клеток *TGF- $\beta$*  и проапоптотического гена *BAX*, в то же время демонстрируя парадоксально низкую частоту мутаций *TP53* и *KRAS*. Наследственно детерминированные опухоли, ассоциированные с синдромом Линча, зачастую содержат мутации  $\beta$ -катенина и не имеют мутаций *APC* и *BRAF*. Третий – путь гиперметилирования CpG-островков в промоторе генов (CIMP), который встречается примерно в 10% всех случаев. CpG-островки содержатся в промоторах половины всех генов, и их метилирование может привести к потере функции гена. Таким образом, гиперметилирование промотора гена-супрессора опухоли приводит к подавлению транскрипции и может явиться решающим этапом в онкогенезе. CIMP-положительные опухоли часто связаны с *BRAF* или *KRAS* мутациями, но имеют низкую частоту мутаций *TP53* [10–12].

## Фенотипические модели опухоли

Первоначально считалось, что пути прогрессирования колоректального рака исключают друг друга, однако обнаруженные некоторые общие механизмы в каждом из трех путей позволяют разделить механизм онкогенеза на подгруппы, в зависимости от наличия либо отсутствия в нем CIN, MSI и CIMP. Например, большинство MSI опухолей CIMP положительно, а треть CIMP опухолей микросателлитно стабильна (MSS). Большинство MSS опухолей CIN положительно, и только 10% CIN опухолей имеет микросателлитную

нестабильность. Понимание сложного взаимодействия между различными генетическими моделями прогрессирования колоректального рака позволяет классифицировать опухоли на основании молекулярных фенотипов, что обладает важным терапевтическим и прогностическим значением [13, 14].

Выделяют следующие основные фенотипические модели колоректального рака с клинико-морфологическими особенностями.

1. MSI<sup>+</sup>/CIN<sup>-</sup> опухоли встречаются у мужчин пожилого возраста, локализируются в области восходящей ободочной кишки и печеночного угла, часто имеют низкую дифференцировку, обладают муцинозным компонентом и выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрацией. В этом варианте практически не встречается фибриноидный некроз. Около 80% таких опухолей CIN<sup>+</sup>, в них наблюдаются гиперметилирование промотора *MLH1* и мутация *BRAF*. Остальные 20% CIN<sup>-</sup>, с неизменным геном *BRAF* (дикий тип) и связаны с синдромом Линча.

2. MSI<sup>-</sup>/CIN<sup>+</sup> опухоли составляют около 80% всех случаев колоректального рака, гистологически представляя собой умеренно дифференцированную аденокарциному с изъязвлением, очагами фибриноидного некроза. Некоторые синдромы полипоза толстой кишки, такие как семейный аденоматозный полипоз и MutYH-ассоциированный полипоз, также развиваются по этому пути. В группе MSI<sup>-</sup>/CIN<sup>+</sup> опухолей выделяют две подгруппы. Первая подгруппа имеет мутации *TP53* и неизменные *KRAS* и *P13KCA* (дикий тип), локализуется чаще в левой половине толстой кишки и встречается у пациентов мужского пола. Вторая подгруппа опухолей имеет мутации *KRAS*, *P13KCA* и неизменный *TP53*, характеризуется высокой или умеренной дифференцировкой, крайне медленным инвазивным ростом, но не показывает связи с локализацией или полом пациента.

3. MSI<sup>-</sup>/CIN<sup>-</sup> – небольшая группа микросателлитно стабильных опухолей, имеющих мутации *KRAS* и *P13KCA* и низкую частоту мутаций *TP53*. Эти новообразования не демонстрируют какой-либо четкой закономерности с локализацией, полом пациента или степенью дифференцировки, поэтому прогностическое значение данного пути пока неясно.

4. Опухоли с мутациями *NRAS* тоже не демонстрируют какой-либо четкой закономерности с локализацией, полом пациента или степенью дифференцировки, и прогностическое значение их также пока неясно.

5. Небольшая группа микросателлитно стабильных опухолей, в которой не обнаружены мутации *BRAF*, *TP53*, *KRAS*, *P13KCA* или *NRAS*. Это тоже, по-видимому, плохо охарактеризованная группа и, вероятно, неоднородная.

### Согласованные молекулярные подтипы опухоли

Вопрос стратификации колоректального рака, учитывающий прогностические и терапевтические особенности фенотипических видов опухоли, долго оставался нерешенным. Наибольший прогресс в фенотипической

классификации опухоли был достигнут в 2015 году международным экспертным консорциумом онкологов и патологоанатомов, которые на основании множества предварительных разнородных исследований описали четыре согласованных молекулярных подтипа (CMS) [15–17].

1. CMS1 (MSI-иммунный) подтип составляет 14% случаев колоректального рака и характеризуется MSI<sup>+</sup>, CIN<sup>+</sup>, частыми мутациями гена *BRAF* и сильным иммунным ответом, то есть приравнивается к спорадической группе микросателлитно нестабильных опухолей. У пациентов с подтипом CMS1 крайне низка общая выживаемость.

Большую часть опухолей, описанных как CIN<sup>+</sup> тип колоректального рака, эксперты разделили на три подкатегории.

2. CMS2 (канонический) подтип составляет 37%, характеризуется мутацией в генах-супрессорах (*APC*, *TP53*), увеличением числа копий онкогенов и приравнивается к первой подгруппе MSI<sup>-</sup>/CIN<sup>+</sup> опухолей. У пациентов с подтипом CMS2 лучшие показатели общей выживаемости по сравнению с имеющими другие подтипы.

3. CMS3 (метаболический) подтип составляет 13%, характеризуется частыми мутациями в генах *KRAS*, *P13KCA* и приравнивается ко второй подгруппе MSI<sup>-</sup>/CIN<sup>+</sup> опухолей.

4. CMS4 (мезенхимальный) подтип составляет 23% и характеризуется повышенной экспрессией генов, отвечающих за эпителиально-мезенхимальную трансформацию, инвазию и ангиогенез. У пациентов с подтипом CMS4 часты метастатические поражения, худшая общая и безрецидивная выживаемость.

Оставшиеся 13% случаев колоректального рака обладают смешанными признаками и, вероятно, находятся в состоянии переходного фенотипа.

### Иммуногистохимия

Постоянное совершенствование схем терапии колоректального рака, а также глубокое понимание путей канцерогенеза сделали подход к лечению каждого конкретного случая индивидуальным. Наличие того или иного подтипа, по-видимому, определяет ответ опухоли на цитотоксические и таргетированные терапевтические препараты, поэтому в настоящее время следует не только правильно идентифицировать первичный очаг в случае метастазирования, но и предоставлять точную оценку индивидуальных характеристик опухоли, способных повлиять на исход лечения. Использование иммуногистохимического (ИГХ) метода диагностики позволяет решить эту задачу наиболее точно. Далее приведен перечень ИГХ маркеров и указана целесообразность их применения.

### Определение MSI

Наиболее важным в прогностическом плане следует считать определение микросателлитной неста-

бильности и ее степени. Для выявления MSI используют панель Bethesda, состоящую из пяти маркеров: двух мононуклеотидных, таких как BAT25 и BAT26, и трех динуклеотидных – D5S346, D2S123 и D17S250. Если все маркеры показывают экспрессию, опухоль считается микросателлитно стабильной (MSS). Если не экспрессируется один маркер, опухоль считается имеющей низкий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-L), если экспрессия теряется для двух и более маркеров, то у новообразования высокий уровень (MSI-H). Из-за дефектной репарации ДНК опухоли MSI-H демонстрируют высокую частоту мутаций (гипермутабельные), что приводит к более быстрому прогрессированию опухоли от доброкачественной клональной пролиферации до инвазивной карциномы [18–20].

### Скрининг и синдром Линча

Для достоверного увеличения 5-летней выживаемости следует использовать программы скрининга, направленные на раннее выявление поврежденных белков, способных к инициации онкогенеза. В связи с этим огромное внимание должно уделяться синдрому Линча, так как при его наличии колоректальный рак развивается в более молодом возрасте, примерно в 50 лет, что на 15 лет раньше, чем в общей популяции. Развитие рака на месте полипов при синдроме Линча также происходит намного быстрее (35 месяцев), чем при спорадическом колоректальном раке (10–15 лет). Скрининг проводят с выявлением экспрессии четырех белков MMR (MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2). В большинстве случаев для скрининга достаточно провести окрашивание на MSH6 и PMS2, так как эти белки функционально действуют в димерах MLH1/PMS2 и MSH2/MSH6, соответственно. Следовательно, если функция MLH1, MSH2 нарушена, MSH6 и PMS2 окрашиваться не будут. На практике же многие предпочитают исследовать все четыре белка, чтобы немедленно оценить их экспрессию. Сохранная экспрессия всех четырех маркеров позволяет с большой вероятностью говорить о спорадическом колоректальном раке. Если все четыре маркера не окрашиваются, а по панели Bethesda доказано, что опухоль MSI-H, диагноз «синдром Линча» наиболее вероятен [21–23].

### ИГХ маркеры колоректального рака

В качестве методов диагностики ИГХ исследование проводится с целью определения чувствительности к препаратам таргетной терапии и поиска первичного очага, в случае обнаружения метастазов [24]. Главными ИГХ маркерами колоректального рака являются CK7/CK20, GPA33, CDH17, CDX2, виллин и β-катенин. Прогностически обоснованным остается поиск мутаций в генах *TP53*, *BRAF* и *KRAS*. Для определения первичного очага, в случае метастатической формы колоректального рака, используются CEA и SATB2. Заметим, что следует учитывать не только наличие или отсут-

ствие реакции, но и локализацию окрашивания. Неправильная локализация окраски того или иного маркера свидетельствует о ложной реакции, по которой нельзя делать выводы относительно опухоли.

1. Цитокератины (cytokeratins, CK) – это члены семейства промежуточных филаментов, представляющие собой белки, экспрессируемые эпителиальными клетками. Идентифицировано 20 видов этих белков, различные паттерны которых экспрессируются в разных органах. Паттерн CK7/CK20<sup>+</sup> экспрессируется слизистой оболочкой толстой кишки. Конкретно CK7 ограничен железистыми клетками и при колоректальном раке обычно имеет отрицательную экспрессию. Тем не менее это может варьировать, в зависимости от подтипа и агрессивности новообразования. Повышенная экспрессия CK7 встречается в опухолях низкой дифференцировки, а также при микросателлитно нестабильном колоректальном раке с мутацией *BRAF*. CK20 экспрессируют эпителиальные клетки кишечных крипт, его содержание постепенно увеличивается от дна крипты, где он отсутствует, до верхушки. При колоректальном раке CK20 дает сильную экспрессию, однако может вообще отсутствовать в низкодифференцированных и микросателлитно нестабильных опухолях. Оба маркера имеют цитоплазматическое окрашивание [25, 26].

*GPA33* – это ген, кодирующий мембранный белок и экспрессирующийся в 95% случаев колоректального рака. Антитела к *GPA33*, используемые в терапии, были предложены в качестве эффективного средства лечения опухолей, экспрессирующих этот белок. В высоко- и умереннодифференцированных опухолях наблюдается мембранная экспрессия, в низкодифференцированных и муцинозных опухолях – цитоплазматическая [27, 28].

*CDH17* – это кадгерин, участвующий в адгезии и пролиферации клеток и экспрессируемый в бокаловидных клетках толстой кишки. Наблюдается прямая связь между силой экспрессии этого белка и инвазивным или метастатическим потенциалом колоректального рака. Маркер имеет мембранное окрашивание [29, 30].

*CDX2* – это фактор транскрипции, кодируемый одноименным геном. Его работа важна для эмбрионального и пожизненного сохранения клеточного фенотипа толстой кишки и подавления онкогенеза. Низкая экспрессия *CDX2* коррелирует с наличием MSI и CIMP опухолей и низкой выживаемостью, а высокая экспрессия – со слабой клеточной атипией и отсутствием метастазов. Маркер имеет ядерное окрашивание [31, 32].

Виллин – это связывающий актин белок цитоскелета, участвующий в поддержании микроворсинок в эпителиальных клетках. Его апикальная экспрессия сохранена практически во всех случаях колоректального рака, кроме низкодифференцированных микросателлитно нестабильных форм. Маркер имеет мембранное окрашивание [31, 33].

$\beta$ -катенин – это многофункциональный белок, участвующий как в клеточной адгезии, так и во внутриклеточной передаче сигналов, способствуя пролиферации клетки. Его экспрессия обычно остается высокой в большинстве типов колоректального рака. Маркер имеет мембранное и цитоплазматическое окрашивание [34, 35].

*TP53* – это ген-супрессор опухолей, отвечающий за репарацию и регуляцию транскрипции. Его мутация встречается наиболее часто в злокачественных новообразованиях. Мутации в *TP53* приводят к синдрому Ли–Фраумени и раку, включая ранний колоректальный. Увеличение экспрессии *TP53* прямо коррелирует с увеличением пролиферативных и инвазивных признаков опухоли. Кроме того, *TP53* часто сверхэкспрессируется при дисплазии эпителия крипт, вызванной язвенным колитом [36, 37].

*BRAF* – это киназа сигнального пути MAPK/ERK. Мутация *BRAF* встречается примерно в 10% случаев колоректального рака и почти всегда обнаруживается в CIMP положительных опухолях. Отсутствие окрашивания указывает на мутацию *BRAF*, которая обычно включает синдром Линча. Маркер имеет ядерное, цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [38, 39].

*PIK3CA* – это киназа, часто мутирующая при проксимальном раке толстой кишки, наряду с мутацией *KRAS*. Приобретение соматических мутаций в этом гене может снизить показатели выживаемости при лекарственно устойчивых колоректальных опухолях, которые также содержат мутации *KRAS*. Маркер имеет цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [37, 40].

Карциноэмбриональный антиген (carcinoembryonic antigen, CEA) включает в себя большой класс белков, экспрессирующихся в аденокарциномах. Подвид CEA, САМ5, является биомаркером колоректального рака и обладает высокой чувствительностью при его метастатической форме, что делает его крайне полезным. Маркер имеет цитоплазматическое и мембранозное окрашивание [41, 42].

*SATB2* – это фактор транскрипции, участвующий в ремоделировании хроматина. Потеря экспрессии *SATB2* при колоректальном раке коррелирует с потерей дифференцировки и увеличением инвазивного потенциала. *SATB2* может быть полезным маркером для первичного и метастатического колоректального рака из-за его высокой специфичности. Маркер имеет ядерное окрашивание [25, 33].

### Методы лечения колоректального рака

Предоставление информации об индивидуальных характеристиках опухоли на основе иммуногистохимического исследования позволяет определить ее ответ на цитотоксические и таргетные терапевтические препараты, выбрав тактику лечения. Хирургическая резекция кишки показана на ранних стадиях новообразования, достоверно увеличивая 5-летнюю выжива-

емость. Следует заметить, что в отличие от карцином других локализаций инвазия в собственную пластинку слизистой оболочки толстой кишки не дает возможности к метастазированию, следовательно, такая внутрислизистая карцинома толстой кишки классифицируется как карцинома *in situ* (Cis) или аденома с тяжелой дисплазией. Данная классификация крайне важна, так как при Cis для выздоровления достаточно резекции участка кишки. Хирургическое вмешательство также применимо в случае наличия изолированного метастаза в печени или в легком, после резекции которого выживаемость увеличивается. Неоадьювантную терапию проводят пациентам с опухолью на поздних стадиях. Адьювантная терапия на основе фторурацила является стандартной практикой, однако при MSI-H опухолях данный препарат неэффективен и, возможно, вреден. В этом случае рекомендуется добавлять иринотекан или оксалиплатин. При неэффективности фторурацила пациентам часто назначают цетуксимаб и панитумумаб, входящие в основу анти-EGFR терапии. Анти-EGFR терапия показала свою эффективность при отсутствии мутаций гена *KRAS* и *PIK3CA* (дикий тип). Некоторые исследователи также утверждают, что мутации генов *BRAF*, *NRAS* делают неэффективной анти-EGFR терапию. Радиотерапия часто используется в сочетании с химиотерапией на поздних стадиях заболевания и направлена на уменьшение опухолевой прогрессии [43–45].

### Заключение

Можно с уверенностью говорить: примерно 70% случаев колоректального рака является спорадическими, CIN-положительными, микросателлитно стабильными опухолями, растущими медленно и встречающимися у пациентов пожилого возраста. Такие новообразования окрашиваются маркерами CK7-/CK20+, CDX2+. Около 15% опухолей микросателлитно нестабильно, часть их них наследственно детерминирована. MSI+ опухоли развиваются у пациентов среднего возраста и коррелируют с плохим прогнозом выживаемости. MSI-H часто имеют aberrантную экспрессию обычных маркеров карциномы толстой кишки и являются CK7+/CK20-, CDX2-. Это особенно важно при биопсии метастазов в отдаленные органы. Дополнительным исследованием в случае иммунопрофиля CK7+/CK20-, CDX2- должно быть иммуногистохимическое исследование по панели Bethesda, а также на экспрессию белков MMR, для исключения синдрома Линча.

### Литература/References

1. Colorectum fact sheet. International Agency for Research on Cancer (IARC). Available from: [http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/10\\_8\\_9-Colorectum-fact-sheet.pdf](http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/10_8_9-Colorectum-fact-sheet.pdf) (Accessed August 2020).
2. *Connell LC, Mota JM, Braghiroli MI, Hoff PM.* The rising incidence of younger patients with colorectal cancer: Questions

- about screening, biology, and treatment. *Curr Treat Options Oncol.* 2017;18(4):23. DOI: 10.1007/s11864-017-0463-3.
3. *Thanikachalam K, Khan G.* Colorectal cancer and nutrition. *Nutrients.* 2019;11(1):164. DOI: 10.3390/nu11010164.
  4. *Song M, Chan AT, Sun J.* Influence of the gut microbiome, diet, and environment on risk of colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2020;158(2):322–40. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.06.048.
  5. *Kidambi TD, Kohli DR, Samadder NJ, Singh A.* Hereditary polyposis syndromes. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2019;17(4):650–65. DOI: 10.1007/s11938-019-00251-4.
  6. *Hung H, You J, Chiang J, Hsieh P, Chiang S, Lai C et al.* Clinicopathological characteristics and outcomes of metachronous rectal cancer in patients with a history of cervical cancer with and without remote radiotherapy: Reports of 45 cases. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(30):e21328. DOI: 10.1097/MD.00000000000021328.
  7. *Chen CH, Lin CL, Kao CH.* The effect of cholecystectomy on the risk of colorectal cancer in patients with gallbladder stones. *Cancers (Basel).* 2020;12(3):550. DOI: 10.3390/cancers12030550.
  8. *Murakami T, Sakamoto N, Nagahara A.* Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma/polyp with and without dysplasia/carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2018;24(29):3250–9. DOI: 10.3748/wjg.v24.i29.3250.
  9. *Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Dammacco F.* Precancerous colorectal lesions (Review). *Int J Oncol.* 2013;43(4):973–84. DOI: 10.3892/ijo.2013.2041.
  10. *Mármol I, Sánchez-de-Diego C, PradillaDieste A, Cerrada E, Rodríguez Yoldi MJ.* Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1):197. DOI: 10.3390/ijms18010197.
  11. *Wielandt AM, Villarreal C, Hurtado C, Simian D, Zamorano D, Martínez M et al.* Characterization of patients with sporadic colorectal cancer following the new Consensus Molecular Subtypes (CMS). *Rev Med Chil.* 2017; 45(4):419–30. DOI: 10.4067/S0034-98872017000400001.
  12. *Hallajzadeh J, Maleki Dana P, Mobini M, Asemi Z, Mansournia MA, Sharifi M et al.* Targeting of oncogenic signaling pathways by berberine for treatment of colorectal cancer. *Med Oncol.* 2020;37(6):49. DOI: 10.1007/s12032-020-01367-9.
  13. *Domingo E, Ramamoorthy R, Oukrif D, Rosmarin D, Presz M, Wang H et al.* Use of multivariate analysis to suggest a new molecular classification of colorectal cancer. *J Pathol.* 2013;229(3):441–8. DOI: 10.1002/path.4139.
  14. *Sveen A, Bruun J, Eide PW, Eilertsen IA, Ramirez L, Murumägi A et al.* Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies. *Clin Cancer Res.* 2018;24(4):794–806. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1234.
  15. *Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C et al.* The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015;21(11):1350–6. DOI: 10.1038/nm.3967.
  16. *Müller MF, Ibrahim AE, Arends MJ.* Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2016;469(2):125–34. DOI: 10.1007/s00428-016-1956-3.
  17. *Ten Hoorn S, Trinh A, de Jong J, Koens L, Vermeulen L.* Classification of colorectal cancer in molecular subtypes by Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol.* 2018;1765:179–91. DOI: 10.1007/978-1-4939-7765-9\_11.
  18. *Dietmaier W, Büttner R, Rüschoff J.* Microsatellite instability: Review of methods and applications. *Pathologe.* 2019;40(3):313–27. DOI: 10.1007/s00292-019-0610-7.
  19. *De'Angelis GL, Bottarelli L, Azzone C, De'Angelis N, Leandro G, Di Mario F et al.* Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed.* 2018;89(9-S):97–101. DOI: 10.23750/abm.v89i9-S.7960.
  20. *Lin A, Zhang J, Luo P.* Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front Immunol.* 2020;11:2039. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02039.
  21. *Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, Shia J, Bandlamudi C, Mandelker D et al.* Microsatellite instability is associated with the presence of Lynch syndrome pan-cancer. *J Clin Oncol.* 2019;37(4):286–95. DOI: 10.1200/JCO.18.00283.
  22. *Carethers JM.* High predictability for identifying Lynch syndrome via microsatellite instability testing or immunohistochemistry in all Lynch-associated tumor types. *Transl Cancer Res.* 2019;8(Suppl 6):S559–S563. DOI: 10.21037/tcr.2019.08.10.
  23. *Sinicrope FA.* Lynch syndrome-associated colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(8):764–73. DOI: 10.1056/NEJMcpl714533.
  24. *Barbalan A, Nicolaescu AC, Magaran AV, Mercut R, Balasoiu M, Bancescu G et al.* Immunohistochemistry predictive markers for primary colorectal cancer tumors: Where are we and where are we going? *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(1):29–42. PMID: 29940609.
  25. *Lyn J, Wang Y, Wang F, Shen M, Zhou X.* Diagnostic value of SATB2, CK7 and CK20 in colorectal cancer. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2015;44(8):578–81. PMID: 26705182.
  26. *Mesa H, Manivel JC, Larson WS, Dachel SK, Reinink AR, Jessurun J.* Immunophenotypic comparison of neoplasms of the appendix, right colon, and left colon in search of a site-specific phenotypic signature. *Int J Surg Pathol.* 2020;28(1):20–30. DOI: 10.1177/1066896919859096.
  27. *Wong NACS, Adamczyk LA, Evans S, Cullen J, Oniscu A, Oien KA.* A33 shows similar sensitivity to but is more specific than CDX2 as an immunomarker of colorectal carcinoma. *Histopathology.* 2017;71(1):34–41. DOI: 10.1111/his.13194.
  28. *Wu Z, Guo HF, Xu H, Cheung NV.* Development of a tetravalent Anti-GPA33/Anti-CD3 bispecific antibody for colorectal cancers. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(10):2164–75. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-18-0026.
  29. *Tian X, Han Z, Zhu Q, Tan J, Liu W, Wang Y et al.* Silencing of cadherin-17 enhances apoptosis and inhibits autophagy in colorectal cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:331–7. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.020.
  30. *Bartolomé RA, Barderas R, Torres S, Fernandez-Aceñero MJ, Mendes M, García-Foncillas J et al.* Cadherin-17 interacts with  $\alpha 2\beta 1$  integrin to regulate cell proliferation and adhesion in colorectal cancer cells causing liver metastasis. *Oncogene.* 2014;33(13):1658–69. DOI: 10.1038/onc.2013.117.
  31. *Altintas S, Bayrak M, Altintas Y.* Prognostic value of CDX2 and Villin expression in advanced stage colorectal carcinoma. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2019;29(11):1057–61. DOI: 10.29271/jcsp.2019.11.1057.

32. Slik K, Turkki R, Carpén O, Kurki S, Korkeila E, Sundström J et al. CDX2 loss with microsatellite stable phenotype predicts poor clinical outcome in stage II colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2019;43(11):1473–82. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001356.
33. Li Z, Rock JB, Roth R, Lehman A, Marsh WL, Suarez A et al. Dual stain with SATB2 and CK20/Villin is useful to distinguish colorectal carcinomas from other tumors. *Am J Clin Pathol*. 2018;149(3):241–6. DOI: 10.1093/ajcp/aqx160.
34. Nazemalhosseini Mojarad E, Kashfi SM, Mirtalebi H, Almasi S, Chaleshi V, Kishani Farahani R et al. Prognostic significance of nuclear  $\beta$ -catenin expression in patients with colorectal cancer from Iran. *Iran Red Crescent Med J*. 2015;17(7):e22324. DOI: 10.5812/ircmj.22324v2.
35. Zhang S, Wang Z, Shan J, Yu X, Li L, Lei R et al. Nuclear expression and/or reduced membranous expression of beta-catenin correlate with poor prognosis in colorectal carcinoma: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(49):e5546. DOI: 10.1097/MD.0000000000005546.
36. Li C, Bu J, Liao Y, Zhang J, Han J, Zhang H et al. High expressions of CUL4A and TP53 in colorectal cancer predict poor survival. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(6):2829–42. DOI: 10.1159/000496013.
37. Rachmawati M, Yulianti H, Hernowo BS, Suryanti S, Wijaya I, Rahadiani N et al. The correlation of KRAS gene expression and P53 immunopositivity in colorectal adenocarcinoma. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(12):1940–5. DOI: 10.3889/oamjms.2019.549.
38. Barras D, Missiaglia E, Wirapati P, Sieber OM, Jorissen RN, Love C et al. BRAF V600E mutant colorectal cancer subtypes based on gene expression. *Clin Cancer Res*. 2017;23(1):104–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0140.
39. Cohen R, Cervera P, Svrcek M, Pellat A, Dreyer C, de Gramont A et al. BRAF-Mutated colorectal cancer: What is the optimal strategy for treatment? *Curr Treat Options Oncol*. 2017;18(2):9. DOI: 10.1007/s11864-017-0453-5.
40. Luo Q, Chen D, Fan X, Fu X, Ma T, Chen D. KRAS and PIK3CA bi-mutations predict a poor prognosis in colorectal cancer patients: A single-site report. *Transl Oncol*. 2020;13(12):100874. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100874.
41. Gonzalez-Exposito R, Semiannikova M, Griffiths B, Khan K, Barber LJ, Woolston A et al. CEA expression heterogeneity and plasticity confer resistance to the CEA-targeting bispecific immunotherapy antibody cibisatamab (CEA-TCB) in patient-derived colorectal cancer organoids. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):101. DOI: 10.1186/s40425-019-0575-3.
42. Mao J, Du P, Yang HT, Hu H, Wang SY, Wu X et al. Prognostic value of carbohydrate antigen 125 and carcinoembryonic antigen expression in patients with colorectal carcinoma and its guiding significance for chemotherapy. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(14):e19420. DOI: 10.1097/MD.00000000000019420.
43. Yaeger R, Kotani D, Mondaca S, Parikh AR, Bando H, van Seventer EE et al. Response to anti-EGFR therapy in patients with BRAF non-V600-Mutant metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(23):7089–97. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2004.
44. Zhao B, Wang L, Qiu H, Zhang M, Sun L, Peng P et al. Mechanisms of resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(3):3980–4000. DOI: 10.18632/oncotarget.14012.
45. Martinelli E, Ciardiello D, Martini G, Troiani T, Cardone C, Vitiello PP et al. Implementing anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) therapy in metastatic colorectal cancer: Challenges and future perspectives. *Ann Oncol*. 2020;31(1):30–40. DOI: 10.1016/j.annonc.2019.10.007.

### Информация об авторах

Данил Сергеевич Швороб – ординатор кафедры патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

Татьяна Ивановна Шевченко – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

Роман Борисович Кондратюк – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии ДонНМУ им. М. Горького.

### Author information

Danil S. Shvorob – Resident, Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-6578-0050>

Tatiana I. Shevchenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2073-9772>

Roman B. Kondratyuk – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Pathological Anatomy Department, M. Gorky Donetsk National Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5928-8799>

## Оценка качества биопсийной морфологической диагностики воспалительных заболеваний кишечника по цифровым изображениям

Х.М. Ахриева<sup>1</sup>, Е.А. Коган<sup>3</sup>, А.С. Тертычный<sup>3</sup>, О.В. Зайратьянц<sup>4</sup>, Л.С. Селиванова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Ингушский государственный университет, Магас, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

**Введение.** Морфологическая диагностика воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) на материале эндоскопических биоптатов продолжает оставаться достаточно сложной задачей и не всегда позволяет патологоанатому сделать окончательное заключение. Трудности возникают при отсутствии в биопсийном материале диагностически значимой морфологической картины этих заболеваний. Такие ситуации могут приводить к неверной трактовке обнаруженных морфологических изменений и ошибочному патогистологическому заключению. Цель исследования – оценить качество морфологической диагностики ВЗК на биопсийном материале с использованием цифровых изображений. **Материалы и методы.** На созданной нами интернет-платформе были размещены 100 отсканированных изображений гистологических срезов биоптатов толстой кишки, полученных у 70 пациентов с клинической картиной ВЗК. На основании собственного практического опыта, а также с учетом рекомендаций европейского и британского обществ патологов подготовлен список вопросов, на которые предлагали ответить врачам-патологоанатомам, участвовавшим в диагностике. Диагноз был установлен на основании клинико-морфологического подхода с учетом комплекса клинических, лабораторных, эндоскопических и морфологических данных. Опрос на первом этапе был полностью анонимный и включал список из 25 вопросов. Ответы давали десять патологоанатомов, которые согласились принять участие в диагностике. При статистической обработке полученных результатов проводили оценку критерия согласия с использованием каппы Флаяса.

**Результаты.** Сравнительный анализ морфологических исследований показал, что поставить точный диагноз участники опроса смогли только в 71% случаев язвенного колита и в 63% случаев болезни Крона. Коэффициент согласия при этом демонстрировал удовлетворительные значения – каппа Флаяса составила 0,34 и 0,25, соответственно. В части случаев участники затруднились провести дифференциальный диагноз между ВЗК и другими формами колитов и не всегда могли провести дифференциальный диагноз между язвенным колитом и болезнью Крона. По отдельно взятым критериям, на которых базируется постановка диагноза, редко удавалось достичь согласия выше каппа 0,5. Чаще согласие участников было «слабое» и «удовлетворительное». Во многом это объясняется тем, что мы предварительно не согласовывали точные критерии предлагаемых параметров, а также в большей степени фактом, что эти параметры имели четыре степени выраженности – от 0 до 3.

**Заключение.** Полученные результаты показали имеющееся наличие расхождений в оценке биоптатов у пациентов с подозрением на ВЗК. Созданная интернет-платформа предоставляет широкие возможности для повышения качества морфологической диагностики ВЗК на материале илео- и колонобиоптатов путем отработки и уточнения критериев и их оценки при постановке заключительного диагноза.

**Ключевые слова:** воспалительные заболевания кишечника, колит, цифровая патология

**Для корреспонденции:** Александр Семенович Тертычный. E-mail: atertychnyy@gmail.com

**Для цитирования:** Ахриева Х.М., Коган Е.А., Тертычный А.С., Зайратьянц О.В., Селиванова Л.С. Оценка качества биопсийной морфологической диагностики воспалительных заболеваний кишечника по цифровым изображениям. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):21–28. DOI: 10.31088/SEM2021.10.3.21-28.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 01.03.2021. Получена после рецензирования 18.03.2021. Принята в печать 21.04.2021.

## Quality assessment of the inflammatory bowel disease biopsy diagnosis using digital images

Kh.M. Akhrieva<sup>1</sup>, E.A. Kogan<sup>3</sup>, A.S. Tertychniy<sup>3</sup>, O.V. Zayratyants<sup>4</sup>, L.S. Selivanova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ingush State University, Magas, Russia

<sup>2</sup> National Medical Research Center of Endocrinology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>4</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

**Introduction.** Morphological diagnosis of inflammatory bowel diseases (IBDs) based on endoscopic biopsies remains a rather challenging task and does not always allow the pathologist to make the final conclusion. Difficulties arise due to the absence of a classical morphological picture in biopsy specimens as well as the lack of clinical and laboratory data. These issues may lead to an incorrect interpretation of the detected pathological changes and an erroneous conclusion. The aim of the study was to assess the quality of biopsy diagnosis of IBDs using Internet diagnostic tools, namely, the digitalized histological slides.

**Materials and methods.** We created an Internet platform, which contained 100 scanned images of histological slides from 70 patients with suspected IBD. Based on our own practical experience and guidelines of international European and British societies of pathology, we arranged a survey. The diagnosis was made on the combined clinical and morphological approach, considering also a complex of clinical, laboratory, endoscopic, and morphological data. The first stage of the survey was anonymous and included a list of 25 questions. Ten pathologists, who agreed to take part in the study, completed the questionnaire. After statistical processing, the results were assessed using a Fleiss' kappa criterion.

**Results.** The comparative analysis of morphological study showed that the participants were able to diagnose accurately only 71% of ulcerative colitis cases and 63% of Crohn's disease cases. At the same time, the agreement coefficient demonstrated satisfactory values: the Fleiss' kappa was 0.34 and 0.25, respectively. In some cases, the participants found it difficult to perform a differential diagnosis between IBD and other forms of colitis and were not always capable of distinguishing ulcerative colitis from Crohn's disease. A few of the individual criteria, on which the diagnosis is based, rarely reached agreement above a kappa of 0.5. The participants' agreement was considered more often as "weak" and "satisfactory". This is largely due to the fact that we did not discuss the exact criteria for the proposed parameters and that these parameters were divided into four degrees of severity from 0 to 3.

**Conclusion.** The results showed the current discrepancies in the assessment of biopsies in patients with suspected IBD. The developed Internet platform provides additional significant opportunities to improve the quality of morphological diagnosis in ileal and colon biopsies by means of refining the criteria and their assessment in the final diagnosis statement.

**Keywords:** inflammatory bowel disease, colitis, digital pathology

**Corresponding author:** Alexander S. Tertychniy. E-mail: atertychnyy@gmail.com

**For citation:** Akhrieva Kh.M., Kogan E.A., Tertychniy A.S., Zayratyants O.V., Selivanova L.S. Quality assessment of the inflammatory bowel disease biopsy diagnosis using digital images. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):21–28. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.21-28 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 01.03.2021. **Received in revised form** 18.03.2021. **Accepted** 21.04.2021.

### Введение

В последнее время отмечается тенденция к широкому внедрению и использованию цифровых технологий в медицине [1]. Эта тенденция достаточно давно прослеживается в патологической анатомии [2]. Начиная с 2000-х годов разрабатываются новые приборы, используемые для получения оцифрованных препаратов. К наиболее известным следует отнести сканеры Арегио фирмы Leica (Германия) и 3D Histech (Германия).

Появляется все больше публикаций, в которых обсуждаются перспективы цифровой диагностики, в том числе в патологической анатомии. Все авторы сходятся во мнении, что будущее развитие патологической анатомии невозможно без цифровизации. По мнению

ряда специалистов, уже в ближайшее время нас ожидает переход на цифровую диагностику [3].

Сегодня еще до конца не определена практика перехода на методы цифровой диагностики и ее использования, включая юридические аспекты. Все большую популярность получает использование возможностей цифровой патологии (digital pathology) при проведении интернет-консультаций, обсуждений и в совершенствовании диагностических критериев, а также в обучении [4].

Мы решили проверить возможности цифровой технологии в оценке качества морфологической диагностики воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) на биопсийном материале путем проведения тестирования используемых в настоящее время диагностических

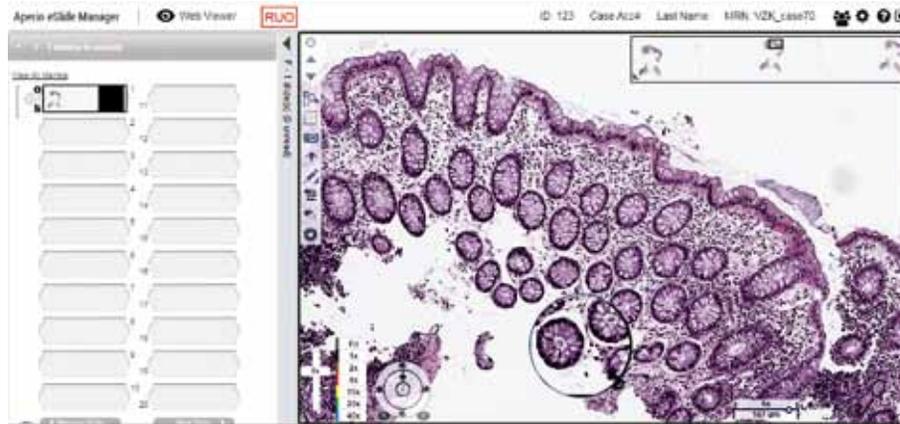


Рис. 1. Скриншот отсканированного цифрового гистологического препарата, демонстрирующий возможности программы  
 Fig. 1. Screenshot of a scanned digital histological specimen demonstrating the program capabilities

критериев и их правильной интерпретации врачами-патологоанатомами.

Нами были отобраны и оцифрованы гистологические препараты, поступившие в централизованное патологоанатомическое отделение Клинического центра Сеченовского университета для текущей диагностики, или консультативный материал илео- и колонобиоптатов от пациентов с подозрением на ВЗК. Всего было оцифровано 100 гистологических препаратов от 70 пациентов в возрасте от 18 до 75 лет. Распределение пациентов по полу было следующим: мужчин 40, женщин 30. В исследование было включено 32 случая язвенного колита (ЯК), 28 случаев болезни Крона (БК) и десять наблюдений хронических колитов известной этиологии, не относящихся к неспецифическим ВЗК. Сканирование препаратов проводили на сканере Aperio фирмы Leica (Германия). Цифровые изображения препаратов были сделаны при использовании увеличения объектива  $\times 40$ , что давало возможность работы с максимальным разрешением полученного цифрового изображения. Оцифрованные гистологические препараты разместили на интернет-платформе Aperio eSlide Manager <<http://esm.bioline.ru/eSlideTray.php>>, которая была предоставлена компанией ООО «Био-Лайн» (Санкт-Петербург). Используемая платформа позволяла увеличивать изображение в 40 раз, а также дополнительно рассматривать отдельные детали с помощью передвигаемого по препарату увеличительного круга. Кроме того, имелась возможность вращения цифрового изображения препарата. Фактически все эти технические возможности позволяли просматривать оцифрованные изображения препаратов так же, как при классической микроскопии, то есть максимально приближенными к изучению гистологического препарата под микроскопом (рис. 1).

На основании собственного практического опыта, а также с учетом рекомендаций европейского и британского обществ патологов был подготовлен список вопросов [5–7]. Для каждого случая был создан опросник с использованием форм-таблиц, разработанных с

помощью интернет-компании Google. Опрос на первом этапе был полностью анонимный и включал список из 25 вопросов. Ответы давали десять врачей-патологоанатомов, которые согласились принять участие в исследовании. Для статистической обработки полученных результатов использовали расчет каппы Фляйса, а также связанной со статистической величиной каппы Коэна для сравнения получаемых участниками результатов оценки. Наш выбор был обусловлен тем, что каппа Коэна применяется для проведения сравнения между двумя экспертами, в то время как для каппы Фляйса число экспертов не ограничено [8–9]. Для расчета использовали пакет программ SPSS Statistics 23.0. Оценку критерия согласия проводили в соответствии с рекомендуемой шкалой:

- от 0,0 до 0,2 – слабое согласие, плохая степень согласованности;
- от 0,21 до 0,4 – удовлетворительное согласие; удовлетворительная степень согласованности;
- от 0,41 до 0,6 – умеренное согласие (среднее), умеренная степень согласованности;
- от 0,61 до 0,8 – хорошее согласие, хорошая (существенная) степень согласованности;
- более 0,81 – очень хорошее (превосходное) согласие, очень хорошая степень согласованности.

Каждый случай получил свой порядковый номер, и его предварял следующий текст (рис. 2):

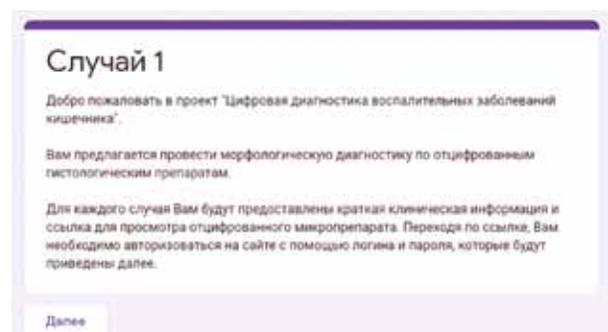


Рис. 2. Скриншот начала опроса  
 Fig. 2. Screenshot of the survey start

«Добро пожаловать в проект “Цифровая диагностика воспалительных заболеваний кишечника”.

Вам предлагается провести морфологическую диагностику по оцифрованным гистологическим препаратам.

Для каждого случая вам будут предоставлены краткая клиническая информация и ссылка для просмотра оцифрованного микропрепарата. Переходя по ссылке, вам необходимо авторизоваться на сайте с помощью логина и пароля, которые будут приведены далее.

В конце исследования участникам предложили ответить на дополнительные вопросы, касающиеся их отношения к диагностике колита по цифровым изображениям.

Уже в процессе проведения первичной оценки некоторые вопросы были скорректированы, а некоторые видоизменены. В окончательном виде они выглядят следующим образом.

### Список вопросов

#### Опрос «диагностика колита»

##### *Морфологические критерии*

- Поверхность биоптатов (ровная, неровная, псевдодворсинчатая).
- Крипты распределены равномерно (Да/Нет).
- Деформация крипт (Есть/Нет).
- Атрофия (-/+/++/+++).
- Структурная перестройка слизистой оболочки (-/+/++/+++).
- Воспаление (-/+/++/+++).
- Активность воспаления (-/+/++/+++).
- Формирование гранулем (Есть/Нет).
- Базальный плазмодитоз (Есть/Нет).
- Повышенное содержание эозинофилов в инфильтрате (Есть/Нет).
- Повышение содержания межэпителиальных лимфоцитов (Есть/Нет).
- Колит и/или илеит (Есть/Нет).
- Процесс острый или хронический (Острый/Хронический).
- Процесс носит очаговый или распространенный/диффузный характер (Очаговый/Диффузный).

##### *Если биоптатов больше одного*

- Во всех биоптатах морфологическая картина сходная.
- Изменения в биоптатах различны по характеру поражения.
- Изменения в биоптатах различны по степени выраженности.
- Имеются биоптаты без патологических изменений (Есть/Нет).

##### *Сформулируйте морфологическое заключение/диагноз:*

- Изменения не характерны для ВЗК (Да/Нет).
- Если не характерны для ВЗК, то какие возможны причины колита (перечислить варианты или указать наиболее вероятную причину).

- Изменения подозрительны в отношении ВЗК (Да/Нет).
- Если подозрительны в отношении ВЗК, то в большей степени характерны для ЯК/БК/провести дифференциальный диагноз между ЯК и БК не представляется возможным.

Результаты проведенного опроса представлены в таблице 1. В ней сравниваются диагнозы, которые были получены по результатам опроса десяти участников – врачей-патологоанатомов, и ранее установленные заключительные диагнозы, учитывавшие как результаты морфологического исследования, так и весь комплекс клиничко-лабораторных и эндоскопических данных. Некоторые из случаев были дополнительно обсуждены авторами статьи с совместным просмотром и пересмотром оцифрованных изображений.

Сравнительный анализ морфологических исследований показал, что поставить точный диагноз участники опроса смогли только в 71% случаев ЯК и 63% случаев при БК. Коэффициент согласия при этом продемонстрировал удовлетворительные значения – каппа Флаяса составила 0,34 и 0,25, соответственно.

Следует учесть, что первоначально проект предполагал изучение ВЗК, так как другие формы колитов, а также редкие патологии составили только небольшой процент наблюдений. Возможно, таким субъективным фактором и настроем участников на диагностику ВЗК можно объяснить тот факт, что другие формы колитов были диагностированы менее чем в половине случаев (47%). Необходимо подчеркнуть, что таких случаев оказалось только десять и все они были крайне редко встречающимися и сложными в диагностическом плане. В продолжение проекта мы планируем расширить спектр исследуемых клинических форм колитов, обсуждается возможность включения случаев, в которых диагноз «колит» не был подтвержден.

При оценке отдельно взятых критериев (табл. 2) наименее воспроизводимой оказалась оценка воспаления (каппа менее 0,2), от которой фактически зависит постановка диагноза «колит». Данный критерий определяется как хроническая воспалительная инфильтрация и характеризуется повышением плотности мононуклеарного клеточного инфильтрата в собственной пластинке слизистой оболочки. Это повышение оценивается как незначительное, но несомненное (+), умеренное (++) и значительное (+++). Очень часто оценить наличие и степень такого повышения бывает трудно. В связи с этим можно объяснить высокий процент постановки диагноза «колит» в случаях, когда плотность инфильтрата может казаться повышенной, но другие критерии колита не обнаруживаются. Оценка этого воспаления потребовала использования такого дополнительного критерия как базальный плазмодитоз, свидетельствующий в пользу ВЗК. Исходя из названия, базальный плазмодитоз характеризуется накоплением клеток воспаления в базальных отделах собственной пластинки слизистой оболочки с наличием среди них

Таблица 1 | Table 1

Сравнение заключительных диагнозов и диагнозов, полученных от участников опроса |  
Comparison of the final diagnoses made by the pathologists and diagnoses received from the participants

Заключительные диагнозы   Final diagnoses	Диагнозы, установленные участниками опроса   Diagnoses made by participants								
	ЯК   Ulcerative colitis (UC)			БК   Crohn's disease (CD)			другие формы колитов (не ВЗК)   other forms of colitis (non-IBD)		
		Процент совпадения диагнозов   Percent of agreement	Каппа Фляйса   the Fleiss' kappa		Процент совпадения диагнозов   Percent of agreement	Каппа Фляйса   the Fleiss' kappa		Процент совпадения диагнозов   Percent of agreement	Каппа Фляйса   the Fleiss' kappa
ЯК   UC	228	(71%)	0,34	22			15		
БК   CD	39			177	(63%)	0,25	24		
ВЗК неклассифицируемое   IBD, non-classified	53			81			4		
Другие формы колитов (не ВЗК)   Other forms of colitis (non-IBD)	0			0			47	(47%)	0,12
Всего получено заключений   Total reports	320			280			100		

Таблица 2 | Table 2

Сравнение согласия в оценке морфологических характеристик в биоптатах пациентов с ВЗК |  
Comparison of agreement in the morphological feature assessment in IBD biopsies

Морфологический признак   Morphological feature	Согласие в %   Agreement in %	Каппа   Каппа	Значение p   p-value
Структурные характеристики   Structural characteristics			
Поверхность   Surface	90	0,40	<0,001
Распределение крипт   Distribution of crypts	88	0,24	<0,005
Деформация крипт   Crypt deformation	64	0,21	<0,005
Атрофия   Atrophy	56	0,12	<0,01
Нарушения гистоархитектоники слизистой оболочки   Structural distortion	73	0,32	<0,01
Характеристика воспаления   Inflammation features			
Повышение плотности клеточного инфильтрата   Increased density of cell infiltrate	78	0,21	<0,05
Базальный плазмоцитоз   Basal plasmocytosis	82	0,45	<0,005
Активность воспаления   Inflammation activity	80	0,40	<0,001
Наличие гранулем   Granuloma formation	88	0,50	<0,01
Повышение содержания эозинофилов   Increase in eosinophil number	75	0,23	<0,001
Повышение содержания межэпителиальных лимфоцитов   Increase in intraepithelial lymphocyte number	62	0,31	<0,01

большого количества плазматических клеток. Иногда базальный плазмоцитоз может напоминать формирующиеся лимфоидные узелки. В таких случаях помогает обнаружение признаков воспаления и структурных нарушений. Мы решили обозначить изменение плотности

клеточного инфильтрата как отсутствие повышения (–), сомнительное повышение (+/–) и безусловное повышение (+). Сомнительное повышение без дополнительных критериев не следует рассматривать как достаточный критерий для постановки диагноза «колит». Безуслов-

ное повышение плотности должно сопровождаться высоким содержанием плазматических клеток в нем и захватывать базальные отделы собственной пластинки слизистой оболочки.

Сложности с оценкой количества эозинофилов были связаны с тем, что критерии их повышения до сих пор четко не определены. По данным литературы [5–7], количество эозинофилов может значительно варьировать в норме. Приводимые по некоторым публикациям цифры 15 эозинофилов в поле зрения при большом увеличении микроскопа для левых отделов толстой кишки и 20 эозинофилов в поле зрения в правых отделах принимаются не всеми исследователями. Хорошо известно, что при ВЗК отмечается повышение содержания эозинофилов в клеточном инфильтрате и этот признак может иметь в таких случаях вспомогательное диагностическое значение. Мы определили «повышенное содержание» эозинофильных лейкоцитов в клеточном инфильтрате как повышенное только при условии их преобладания.

Для того чтобы избежать ошибок в оценке и повысить воспроизводимость ответов, можно предложить ограничить степень повышения двумя вариантами ответов. Прежде всего это касалось показателей активности воспаления и степени структурных нарушений. Хорошо известно, что значение каппа и уровень согласования возрастают при уменьшении степеней градации [10]. В частности, этого можно достичь при уменьшении степени активности воспаления с трех до двух (низкая и высокая). Оценка активности как низкая определяется по наличию нейтрофильных лейкоцитов в воспалительном инфильтрате, а в качестве показателей высокой активности могут быть приняты деструктивные изменения эпителия крипт и покровного эпителия, формирование эрозий и язв.

Если биоптатов много, помимо сравнения важно найти наиболее выраженные изменения и по ним сделать заключение о тяжести структурных изменений, а также заключение о степени гистологической активности.

Помимо перечисленных выше сложностей с определением критериев на сопоставимость результатов влияют качество препаратов и сканов изображений, опыт работы с биопсиями желудочно-кишечного тракта, информированность в отношении современных подходов в диагностике колитов. Следует отметить, что мы для приближения исследования к реальным условиям использовали гистологические препараты из разных медицинских учреждений. Важны опыт и умение работать с цифровыми препаратами, которые у большинства участников отсутствовали.

По результатам заключительного опроса все десять участников проекта поддержали метод изучения гистологических препаратов и большинство (восемь из десяти) – диагностику ВЗК по оцифрованным гистологическим препаратам. Лишь половина участников согласилась дать морфологическое заключение

по оцифрованным гистологическим препаратам. При сравнении обычных и оцифрованных препаратов в пользу последних высказались только пятеро участников, еще двое отметили, что для них разницы нет, и три участника были склонны больше доверять диагностике по обычным гистологическим препаратам. Соответственно, с положением о том, что цифровые препараты способны заменить обычные, согласились два участника, трое считали, что цифровые препараты непригодны для диагностики, и пятеро не смогли прийти к окончательному заключению. Несмотря на такие расхождения в мнениях по отношению к цифровой диагностике, все участники проекта положительно отнеслись к нему и сообщили, что он был им интересен и это повлияло на их подходы в диагностике ВЗК. Все участники выразили пожелание и в дальнейшем посещать данную цифровую платформу для обучения и диагностики новых случаев ВЗК.

### Заключение

Морфологическая диагностика воспалительных заболеваний кишечника на материале эндоскопических биоптатов продолжает оставаться достаточно сложной задачей и не всегда позволяет патологоанатому сделать окончательное заключение. Результаты нашей работы показали, что поставить точный диагноз возможно только в 71% случаев язвенного колита и в 63% случаев при болезни Крона. Коэффициент согласия при этом был «удовлетворительным», значения каппы Фляйса составили 0,31 и 0,25, соответственно. Полученные результаты показывают, как важны получение второго мнения и коллегиальное обсуждение для повышения точности и качества морфологической диагностики.

По данным анализа отдельных морфологических параметров, на которых базируется постановка диагноза, в них редко удавалось достичь согласия выше 0,5. Чаше согласие участников было «слабое» и «удовлетворительное». Во многом это объясняется тем фактом, что мы предварительно не обсуждали коллегиально точные критерии предлагаемых параметров, а также в большей степени попыткой разбить их на четыре степени – от 0 до 3. Если ограничиться только присутствием или отсутствием признака, согласие участников будет возрастать.

Структурная перестройка слизистой оболочки и базальный плазматический инфильтрат являются основополагающими в диагностике воспалительных заболеваний кишечника, и их воспроизводимость показывает неплохие результаты (каппа Фляйса 0,32 и 0,45, соответственно).

Хорошие показатели демонстрирует согласие по выявлению гранул при болезни Крона (каппа 0,5), но всем известно, что гранулемы не могут быть надежным и единственным критерием постановки диагноза «болезнь Крона», так как, по данным литературы, встречаются лишь в трети наблюдений, а также крайне редко могут быть проявлением других заболеваний,

характеризующихся гранулематозным воспалением, в частности туберкулеза и саркоидоза.

В связи с тем, что морфологическая диагностика воспалительных заболеваний кишечника затруднена, так как она проводится с учетом многих качественных параметров, включая изменения гистоархитектоники слизистой оболочки, локализации и состава воспалительного инфильтрата, состава эпителиальных клеток, необходима стандартизация критериев диагностики с использованием возможностей цифровых технологий.

Морфологические критерии ждут дальнейшего усовершенствования. Интернет-платформа оцифрованных препаратов планируется как постоянно пополняемая база для разработки и уточнения морфологических критериев и создания протокола изучения биоптатов нижних отделов желудочно-кишечного тракта, в том числе за счет применения искусственного интеллекта. В настоящее время платформа используется для подготовки ординаторов и аспирантов на кафедре патологической анатомии им. академика А.И. Струкова Сеченовского университета.

Результаты заключительного опроса показали, что большинство участников поддержали цифровой способ изучения гистологических препаратов. В отношении постановки заключительного диагноза по оцифрованным гистологическим препаратам мнения разделились (двое за, трое против и пятеро затруднились ответить). Что касается будущего цифровой патологии, в пользу такого сценария выступила половина участников, однако только три участника указали, что им удобнее работать с цифровыми изображениями. Все участники положительно отнеслись к проекту, который повлиял на их подходы в диагностике воспалительных заболеваний кишечника, и выразили пожелание в дальнейшем посещать данную цифровую платформу для обучения и диагностики новых случаев этих заболеваний.

*Авторы выражают благодарность компании ООО «БиоЛайн» (Санкт-Петербург) за техническое содействие в проведении исследования.*

#### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Х.М. Ахриева, Е.А. Коган, А.С. Тертычный, О.В. Зайратьянц, Л.С. Селиванова.

Сбор и обработка материала – Х.М. Ахриева, А.С. Тертычный, Л.С. Селиванова.

Написание текста – Х.М. Ахриева, А.С. Тертычный.

Редактирование – Е.А. Коган, О.В. Зайратьянц.

#### Информация об авторах

Хава Мусаевна Ахриева – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой факультетской терапии медицинского факультета Ингушского государственного университета.

Евгения Александровна Коган – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

Александр Семенович Тертычный – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

#### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Kh.M. Akhrieva, E.A. Kogan, A.S. Tertychniy, O.V. Zayratyants, L.S. Selivanova.

Collected the data and performed the analysis – Kh.M. Akhrieva, A.S. Tertychniy, L.S. Selivanova.

Wrote the paper – Kh.M. Akhrieva, A.S. Tertychniy.

Edited the manuscript – E.A. Kogan, O.V. Zayratyants.

#### Литература/References

1. Zarella MD, Bowman D, Aeffner F, Farahani N, Xthona A, Absar SF et al. A practical guide to whole slide imaging: A white paper from the digital pathology association. Arch Pathol Lab Med. 2019;143(2):222–34. DOI: 10.5858/arpa.2018-0343-RA.
2. Dangott B, Parwani A. Whole slide imaging for teleconsultation and clinical use. J Pathol Inform. 2010;1:7. DOI: 10.4103/2153-3539.65342.
3. Tizhoosh HR, Pantanowitz L. Artificial intelligence and digital pathology: Challenges and opportunities. J Pathol Inform. 2018;9:38. DOI: 10.4103/jpi.jpi\_53\_18.
4. Evans AJ, Depeiza N, Allen SG, Fraser K, Shirley S, Chetty R. Use of whole slide imaging (WSI) for distance teaching. J Clin Pathol. 2020;jclinpath-2020-206763. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206763.
5. Ахриева Х.М., Тертычный А.С., Маев И.В., Зайратьянц О.В. Классификация и морфологическая диагностика язвенного колита и болезни Крона. Клиническая и экспериментальная морфология. 2017;23(3):4–15. Akhrieva KhM, Tertychniy AS, Maev IV, Zayratyants OV. Classification and morphological diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease. Clinical and experimental morphology. 2017;23(3):4–15 (In Russ.).
6. Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, Geboes K, Mantzari GJ et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis. 2013;7(10):827–51. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.06.001.
7. K Geboes, S Nemolato, M Leo, G Faa (eds.). Colitis: A practical approach to colon biopsy interpretation. Cham, Heidelberg, New York. Dordrecht, London: Springer, 2014. 204 p. DOI: 10.1007/978-3-319-08028-4.
8. Fleiss JL. Measuring nominal scale agreement among many raters. Psychol Bull. 1971;76(5):378–82. DOI: 10.1037/H0031619.
9. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977;33(1):159–74. PMID: 843571.
10. Farmer M, Petras RE, Hunt LE, Janosky JE, Galandiuk S. The importance of diagnostic accuracy in colonic inflammatory bowel disease. Am J Gastroenterol. 2000;95(11):3184–8. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03199.x.

Олег Вадимович Зайратьянц – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Лилия Сергеевна Селиванова – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории морфологии НМИЦ эндокринологии.

#### **Author information**

Khava M. Akhrieva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Intermediate Level Therapy, Medical Faculty, Ingush State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-4683-1953>

Eugenia A. Kogan – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the A.I. Strukov Department of Pathological Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>

Alexander S. Tertychniy – Dr. Sci. (Med.), Professor, A.I. Strukov Department of Pathological Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<https://orcid.org/0000-0001-5635-6100>

Oleg V. Zayratyants – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry.  
<https://orcid.org/0000-0002-1935-9713>

Lilia S. Selivanova – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Morphology, National Medical Research Center of Endocrinology.  
<https://orcid.org/0000-0001-6891-0009>

© Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В., 2021

DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.29-38

УДК 611.1-002-006.5-003.2

## Маркеры воспаления в слизистой оболочке носа и полипозно измененных тканях при полипозном риносинусите

Д.Г. Павлуш<sup>1</sup>, И.В. Дюйзен<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Национальный научный центр морской биологии имени А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, Россия

**Введение.** Проблема полипозного риносинусита (ПРС) в настоящее время до конца не изучена, молекулярные факторы и механизмы, участвующие в инициировании полипозных трансформаций слизистой оболочки (СО) и поддерживающие вероятность их рецидива, не определены. Вместе с тем понимание молекулярной перестройки в тканях СО совершенно необходимо для формирования клинических прогнозов и адекватной терапевтической или хирургической стратегии лечения ПРС. Цель исследования – выявление особенностей локализации и распределения маркеров воспаления в слизистой оболочке носа и полипах разного морфологического типа у пациентов с полипозным риносинуситом.

**Материалы и методы.** Исследованы морфохимическая структура полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин. Материал для гистологического исследования получен при хирургическом лечении пациентов с диагнозом «полипозный риносинусит». Группа сравнения представлена пациентами без полипозной и сопутствующей воспалительной и аллергической патологии СО с диагнозом «искривление перегородки носа», которым была выполнена риносептопластика. Участки удаленной в ходе операции СО носа использовались для сравнительной характеристики морфохимических изменений.

Методом иммуногистохимии определяли тканевую локализацию и распространение SP, NK1, nNOS, iNOS и IL1b.

**Результаты.** Установлено, что формирование полипозных изменений в полости носа сопровождается морфохимическими изменениями на участках слизистой оболочки нижних носовых раковин. В полипах разного морфологического типа изменения активности маркеров воспаления имеют специфический характер.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что изменения в СО нижних носовых раковин, сопутствующие развитию полипоза, формируют определенный патологический фон, способный индуцировать и поддерживать течение патологического процесса. Выявлены особенности специфического сигнального микроокружения в полости носа, обеспечивающие особые условия для формирования разного типа полипозных изменений. Специфика активности и распределения маркеров воспалительного процесса в тканях полипов разного морфологического типа может служить предпосылкой для разработки методов персонализированной терапии данной патологии.

**Ключевые слова:** полипозный риносинусит, воспаление, нейрокининовые рецепторы, вещество P, оксид азота

**Для корреспонденции:** Дмитрий Георгиевич Павлуш. E-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

**Для цитирования:** Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В. Маркеры воспаления в слизистой оболочке носа и полипозно измененных тканях при полипозном риносинусите. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):29–38. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.29-38.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 22.04.2021. Получена после рецензирования 27.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Inflammatory markers in the nasal mucosa and polyp-modified tissues in chronic rhinosinusitis with nasal polyps

D.G. Pavlush<sup>1</sup>, I.V. Dyuzhen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup> A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

**Introduction.** To date, chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) has not yet been extensively studied: the molecular factors and mechanisms involved in the initiation of polypous transformations in

nasal mucosa (NM) and sustaining their recurrence probability are still to be determined. Simultaneously, it is necessary to understand the molecular rearrangement in NM tissues to make clinical prognosis and choose an adequate therapeutic or surgical strategy for CRSwNP treatment. The aim of the study was to identify the features of how inflammatory markers localize and are distributed in the NM and polyps in various morphological CRSwNP types.

*Materials and methods.* We studied morphological and chemical structure of nasal polyps and mucosa of the inferior turbinates. The material was obtained during surgical management of patients diagnosed with CRSwNP. The comparison group involved the patients with a deviated septum who underwent septorhinoplasty and had neither polyposis nor concomitant inflammatory/allergic pathology. The NM removed in surgeries was used to compare morphological and chemical changes. Immunohistochemistry was applied to determine the localization and distribution of SP, NK1, nNOS, iNOS, and IL1b in the tissues.

*Results.* The formation of nasal polyps was found to be accompanied by morphological and chemical alterations in the mucous membrane of the inferior turbinates. In polyps of different morphological types, the changes in the activity of inflammatory markers were specific.

*Conclusion.* The data obtained indicate that changes in the NM of the inferior turbinates, which accompany polyposis development, give certain pathological causes that induce and maintain the pathological process. We have revealed the features of the specific signaling microenvironment in the nasal cavity, which provide special conditions for the formation of polyps of various types. The specificity of the activity and distribution of inflammatory markers in the polyps of different morphological types may serve as a prerequisite for the development of personalized therapy for the disease.

**Keywords:** chronic rhinosinusitis with nasal polyps, inflammation, neurokinin receptors, substance P, nitric oxide

**Corresponding author:** Dmitry G. Pavlush. E-mail: pavlush.dmitrij@yandex.ru

**For citation:** Pavlush D.G., Dyuzen I.V. Inflammatory markers in the nasal mucosa and polyp-modified tissues in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):29–38. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.29-38 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no conflicts of interest.

**Received** 22.04.2021. **Received in revised form** 27.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

## Введение

Полипозный риносинусит (ПРС) является хроническим воспалительным заболеванием полости носа и околоносовых пазух. Встречается у взрослых и составляет от 1 до 5% на 100 000 населения. По особенностям морфологических изменений в ткани полипов их можно разделить на несколько вариантов. В нашем предыдущем исследовании [1] были охарактеризованы основные морфологические признаки, присущие разным типам полипозно измененной слизистой оболочки (СО).

I. Отечный (простой) тип характеризуется отеком стромы, уменьшением числа фибробластов и соединительнотканых волокон, увеличением числа бокаловидных клеток в составе эпителия.

II. Аллергический (эозинофильный) тип полипа характеризуется наличием большого числа воспалительных инфильтратов, клеточный состав которых представлен преимущественно эозинофилами, моноцитами и тучными клетками. Отмечается трансформация многоядного мерцательного эпителия в многослойный плоский. В строме заметно уменьшена плотность кровеносных сосудов.

III. Фиброзный тип (фиброзно-сосудистые, фиброзно-кистозные, фиброзно-железистые полипы) представляет наиболее полиморфную группу [1]. Общие

признаки данного типа – плотное компактное, нередко фиброзное строение стромы, выраженная гиперплазия серозно-слизистых желез с признаками формирования кист, большая плотность расположения микрососудов [2, 3].

В настоящее время молекулярные факторы и механизмы, участвующие в иницировании полипозных трансформаций СО и поддерживающие вероятность их рецидива, до конца не определены. Вместе с тем понимание молекулярной перестройки в тканях СО совершенно необходимо для формирования клинических прогнозов и адекватной терапевтической или хирургической стратегии лечения ПРС [4]. При консервативных методах терапии полипов отечного и фиброзного типа широко используют глюкокортикостероиды системного действия, которые обладают противовоспалительным и иммуносупрессивным действием. Для полипов отечного и аллергического типа еще одним консервативным методом лечения является применение блокаторов лейкотриеновых рецепторов и топических назальных глюкокортикостероидов [4–7].

Известно, что в патологии СО наряду с воспалительными процессами бактериальной, вирусной или аллергической природы большое значение имеет фактор нейрогенного механизма воспаления, клеточно-молекулярными исполнителями которого служат нейро-

пептиды, и газообразные нейротрансмиттеры (оксид азота) [8–10].

Вещество P (SP), как известно, выделяется из чувствительных нервных окончаний. Кроме того, секретировать данный медиатор способны некоторые клеточные элементы иммунной системы (макрофаги, лимфоциты). Вещество P способствует повышению выработки слизи на всем протяжении дыхательных путей, активирует тучные клетки, вызывает их дегрануляцию и выделение гистамина, индуцирует хемотаксис моноцитов, нейтрофилов и эозинофилов, стимулирует макрофаги для дальнейшего производства медиаторов воспаления и цитокинов [11, 12]. Его рецепторы (нейрокининовые рецепторы типа 1, NK1) обнаруживаются на поверхности иммунопозитивных элементов воспалительных инфильтратов, на эпителии и железистых эпителиоцитах, на эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Активация NK1 рецепторов увеличивает вазодилатацию, межтканевый отек в полости носа что приводит к затруднению воздухообмена в верхних дыхательных путях [5, 11, 13].

Оксид азота за счет активности нейрональной NO-синтазы (nNOS) продуцируется нервными волокнами, эпителиоцитами желез, а также эндотелиальными клетками капилляров и артериол. В патофизиологии ПРС роль NO обусловлена как избыточной продукцией нейромедиатора из данных источников, так и присоединением активности индуцибельного фермента (iNOS) в макрофагах. Функция NO в этом случае направлена на модулирование воспалительных процессов, иммунологических реакций и эффективности локального кровотока [12–14].

Вне зависимости от индуктора воспаления (классическое или нейрогенное) внутритканевая перестройка и взаимодействия клеток иммунной системы обеспечиваются активностью про- и противовоспалительных цитокинов. Интерлейкин 1 $\beta$  (IL 1 $\beta$ ) является классическим медиатором воспаления, считается физиологическим индуктором интерферона  $\gamma$ , вырабатывается в большей степени мононуклеарными фагоцитами, и небольшое количество его синтезируют эндотелиоциты и фибробласты. IL 1 $\beta$  обладает широким спектром воспалительных, физиологических, иммунологических и других свойств и играет важную роль в патогенезе полипозных изменений СО [15].

Цель исследования – выявить особенности локализации маркеров воспаления в СО носа и полипах разного морфологического типа у пациентов с ПРС.

## Материалы и методы

Объектами исследования были материал полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин. Материал получен у пациентов женского и мужского пола в возрасте от 35 до 70 лет, всего 70 человек (50 пациентов в группе исследования и 20 пациентов в группе сравнения). Группа исследования представлена пациентами с клинически верифицированным диагнозом

«полипозный риносинусит» без сопутствующей воспалительной (гнойный верхнечелюстной риносинусит) и аллергической (аллергический ринит, бронхиальная астма, аспириновая триада) патологии. Материал для гистологического исследования тканей полипа и СО нижних носовых раковин получен при хирургическом лечении пациентов с ПРС. Группа сравнения представлена пациентами без полипозной и сопутствующей воспалительной и аллергической патологии СО, с диагнозом «искривление перегородки носа», которым была выполнена риносептопластика. Участки удаленной в ходе операции СО носа использовались для сравнительной характеристики морфохимических изменений.

На проведение исследования получено одобрение междисциплинарного комитета по этике Тихоокеанского государственного медицинского университета (протокол № 4 от 15 декабря 2014 года). Включение пациентов в исследуемую группу и группу сравнения осуществлялось при наличии их информированного согласия. Все пациенты были госпитализированы в оториноларингологическое отделение владивостокской клинической больницы № 1. Всем им проведено полное клиническое предоперационное обследование.

*Иммуногистохимическое исследование.* Кусочки полипов полости носа и участки СО нижних носовых раковин фиксировали в 4% растворе забуференного параформальдегида и заливали в парафин по общепринятой методике. Из полученного материала после заливки изготавливали гистологические препараты толщиной 7 мкм на ротационном микротоме (Leica, Германия), на которых с помощью стандартного иммунопероксидазного метода выявляли локализацию следующих маркеров: вещество P (SP), нейрокининовый рецептор 1-го типа (NK1), нейрональная NO-синтаза (nNOS), индуцибельная NO-синтаза (iNOS), интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ). Данные об использованных первичных антителах приведены в таблице 1. Вторичные антитела, меченные пероксидазой хрена (PI-1000 (anti-rabbit), PI-2000 (anti-mouse), США, 1:100), получены от фирмы Vector Laboratories (США) и использовались в соответствии с инструкциями производителя.

Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе AxioScopeA1 (Carl Zeiss, Германия). Морфометрическую оценку проводили с использованием программы ImageJ 4.0. Для каждого маркера подсчитывали удельную плотность иммунопозитивных структур (иммунопозитивная зона по отношению к объему ткани) и удельную плотность распределения иммунопозитивных элементов.

Статистическую обработку материалов проводили с помощью программного обеспечения Windows 7, с использованием программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10. Значение исследуемых объектов отличалось от нормального распределения (критерии Шапиро–Уилка). В сравниваемых группах количественные данные представляли в виде медианы и межквартиль-

Характеристика первичных антител |  
Characteristics of primary antibodies

Антитела   Antibodies	Производитель   Manufacturer	Источник моноклональных антител   Monoclonal antibody source	Разведение   Dilution
SP	Abcam ab14184, США   USA	Мышь   Mouse	1:500
NK1	Chemicon AB 5060, США   USA	Мышь   Mouse	1:500
IL1 $\beta$	Abcam ab226918 США   USA	Кролик   Rabbit	1:150
iNOS	Abcam ab115819, США   USA	Кролик   Rabbit	1:100
nNOS	Abcam ab40662, США   USA	Кролик   Rabbit	1:150

ных интервалов Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ), Med (медиана),  $H_{\text{кв}}$  (нижний квартиль),  $B_{\text{кв}}$  (верхний квартиль). Различия во всех случаях считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

В ходе исследования установлено, что при развитии полипозных изменений в носовой полости отдаленные участки СО носа имеют значительные морфохимические перестройки. При этом особенности локализации и активности маркеров воспаления определяются типом полипозного образования.

**Вещество P (SP).** В СО носа пациентов из группы сравнения вещество P локализовалось в тканевых элементах всех слоев, но преобладало в эпителиоцитах концевых отделов и выводных протоков желез, нервных волокнах, оплетающих кровеносные сосуды и железы, а также в единичных клетках респираторного эпителия (рис. 1 А).

Наличие в носовой полости полипозных изменений находит отражение в распределении данного маркера в СО нижних носовых раковин. Формирование полипоза любого морфологического типа сопровождается увеличением площади иммуногистохимического окрашивания на SP в собственной пластинке СО в ее соединительнотканых волокнах (рис. 1 В), при этом в покровном и железистом эпителии окрашивание практически отсутствует (табл. 2, 3). В СО при развитии полипов аллергического морфотипа активность SP нарастает за счет значительного увеличения содержания маркера в нервных волокнах.

Непосредственно в ткани полипов распределение и количественное содержание данного маркера зависит от морфологического типа полипа. Обращает на себя внимание высокая активности SP в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, при этом максимальное число иммунопозитивных элементов демонстрируют ткани полипов аллергического типа. Характерной чертой полипов данного морфотипа является также содержание маркера в клеточных элементах стенок кровеносных сосудов (рис. 1 С). В полипах аллергического типа наряду с описанными изменениями наличие маркера наблюдалось в эпителии, а именно в верхней части эпителиоцитов.

**Нейрокининовые рецепторы 1-го типа (NK1).** Рецепторы к веществу P (NK1-рецепторы) в СО полости носа пациентов из группы сравнения обнаружены в собственной пластинке слизистой оболочки, где маркируют элементы стенок сосудов, выводные протоки и концевые отделы желез. Высокая концентрация NK1-рецепторов располагается на гладкомышечных клетках крупных кровеносных сосудов, мембране эпителиоцитов, выстилающих выводные протоки, и в меньшей степени на сероцитах желез и клетках эпителия (рис. 1 D).

В СО носа при развитии ПРС распределение данного маркера менялось (табл. 2, 3). При аллергическом типе полипов активность NK1 преимущественно определялась в структуре желез, а в гладкомышечных элементах стенок сосудов уменьшалась (по сравнению с контролем) и практически исчезала в однослойном многорядном мерцательном эпителии. При полипах отечного типа в СО регистрировались значительное увеличение содержания NK1 в гладкомышечных элементах сосудистой стенки (рис. 1 E) и уменьшение активности маркера в glanduloцитах желез. В СО носа при фиброзном типе полипов NK1 были распределены в стенке сосудов и железах.

В тканях полипов распределение данного маркера характеризуется активностью NK1 в эпителии, где значительно возрастает, а его наличие в собственной пластинке СО уменьшается. Из всех исследованных образцов в полипах отечного типа обнаружено наименьшее содержание данного маркера, а ткани полипа фиброзного типа, напротив, характеризовались максимальной активностью данного маркера в покровном эпителии (табл. 2, 3). В полипах отечного типа NK1 рецепторы распределялись в стенке кровеносных сосудов и отдельных клеточных элементах в собственной пластинке СО. Важное отличие полипов аллергического и фиброзного типа – преобладание NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов (рис. 1 F).

**Нейрональная NO-синтаза (nNOS).** В СО носа пациентов из группы сравнения экспрессия nNOS распределялась в субэпителиальном слое и собственной пластинке слизистой оболочки, на участках прохожде-

Таблица 2 | Table 2

**Сравнительная характеристика СО полости носа/нижних носовых раковин (группа сравнения)  
и слизистой полости носа пациентов при ПРС Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв МКМ}}$ ) |  
Comparative characteristics of the nasal cavity/inferior turbinate mucosa (comparison group)  
and nasal mucosa in CRSwNP patients Med (LQ, UQ  $\mu\text{m}$ )**

Маркер   Marker	Показатели СО при разных типах ПРС   Mucous membrane indicators for different CRSwNP types		
	морфологический тип полипа   polyp morphological type	эпителий (площадь положительной зоны)   epithelium (positive zone area)	собственная пластинка (площадь положительной зоны)   lamina propria (positive zone area)
SP	Отечный   Edematous (n=32)	–	–
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	3,89 (2,05; 5,15)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	9,24 (9,15; 9,52)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	1,58 (1,57; 1,98)	3,16 (1,79; 4,34)
NK1	Отечный   Edematous (n=32)	–	7,12 (7,12; 7,29)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	18,66 (10,97; 24,52)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	10,15 (8,52; 10,65)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	1,32 (1,32; 1,45)	11 (10,12; 13,59)
nNOS	Отечный   Edematous (n=32)	–	2,71 (1,58; 5,25)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	4,67 (3,6; 5,82)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	4,79 (1,8; 7,77)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	2,31 (2,11; 2,43)
iNOS	Отечный   Edematous (n=32)	–	4,46 (1,25; 8,82)
	Аллергический   Allergic (n=12)	–	–
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	–	–
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	1,58 (1,56; 2,18)
IL 1 $\beta$	Отечный   Edematous (n=32)	2,12 (1,62; 2,12)	6,08 (3,8; 7,31)
	Аллергический   Allergic (n=12)	12,17 (8,75; 15,42)	12,68 (11,71; 16,33)
	Фиброзный   Fibrous (n=6)	12,87 (12,18; 16,88)	11,83 (8,96; 12,89)
	Группа сравнения   Comparison group (n=4)	–	–

Здесь и в таблице 3 результаты представлены в виде Med ( $H_{\text{кв}}$ ,  $B_{\text{кв}}$ ), где Med – медиана,  $H_{\text{кв}}$  – нижний квартиль,  $B_{\text{кв}}$  – верхний квартиль. Статистически значимые отличия от группы сравнения ( $p \leq 0,05$ )

Here and in Table 3: the results are presented as Med (LQ, UQ), where Med is the median, LQ – the lower quartile, and UQ – the upper quartile. We noted statistically significant differences from the comparison group ( $p \leq 0.05$ )

ния нервных волокон. Мощные пучки NO-ергических проводников (рис. 1 G) проходили в составе межжелезистой соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки и оплетали концевые отделы и выводные протоки желез. Эпителий на nNOS не маркировался.

Общий признак, характерный для СО носа с полипозными изменениями, – уменьшение активности nNOS в нервных проводниках (рис. 1 H). При этом количественное содержание маркера в других элементах собственной пластинки СО нарастало (табл. 2, 3). При полипах отечного типа nNOS это происходило за счет повышения активности фермента в цитоплазме клеток концевых отделов желез и эпителиоцитов выводных протоков. В СО при полипах аллергического типа nNOS селективно маркировала клетки эпителия,

а в собственной пластинке СО – стенку кровеносных сосудов, выводные протоки и концевые отделы желез. В СО носа при развитии полипов фиброзного типа nNOS маркировала субэпителиальные участки ткани, иногда индуировала утолщенную базальную мембрану. В собственной пластинке СО маркер селективно окрашивал отдельные железистые эпителиоциты и клеточные элементы стенки кровеносных сосудов (рис. 1 H).

Преимущественное субэпителиальное распределение nNOS характерно и для тканей полипов – иммуногистохимическая реакция обнаружена в утолщенной базальной мембране (рис. 1 I). При отечном и аллергическом типе полипов маркер обнаруживался также по ходу кровеносных сосудов. В полипах фиброзного типа nNOS располагалась в эпителиоцитах желез и не-

Сравнительная характеристика маркеров в полипозно измененных тканях при ПРС Med ( $H_{кв}$ ,  $V_{кв}$ ,  $M_{кв}$ ) |  
Comparative characteristics of markers in polyposis-altered tissues in CRSwNP Med (LQ, UQ  $\mu$ m)

Маркер   Marker	Тканевые элементы полипа (удельная плотность распределения)   Polyp tissue elements (specific distribution density)	Отечный тип полипа   Edematous polyp type (n=32)	Аллергический тип полипа   Allergic polyp type (n=12)	Фиброзный тип полипа   Fibrous polyp type (n=6)
SP	Эпителий   Epithelium	–	4,28 (2,16; 4,95)	–
	Собственная пластинка   Lamina propria	–	7,07 (5,05; 13,01)	6,32 (5,22; 7,28)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	39 (38; 42)	40 (38; 41)	28,5 (25,6; 34,9)
NK1	Эпителий   Epithelium	2,6 (1,46; 5,2)	10,33 (8,66; 10,63)	14,38 (10,3; 20,15)
	Собственная пластинка   Lamina propria	2,29 (2,04; 2,32)	6,78 (5,23; 7,35)	8,24 (7,81; 10,79)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	19,11 (16,28; 27,68)	20 (17,4; 41,6)	27,84 (23,89; 30,63)
nNOS	Эпителий   Epithelium	–	–	–
	Собственная пластинка   Lamina propria	4,64 (3,94; 5,29)	4,06 (3,74; 4,4)	5,8 (4,58; 6,3)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	1,9 (1,6; 2,3)	–	1,7 (1,4; 2,2)
iNOS	Эпителий   Epithelium	16,19 (13,44; 20,06)	3,26 (1,86; 4,67)	6,72 (3,33; 13,48)
	Собственная пластинка   Lamina propria	6,03 (5,58; 9,06)	–	4,9 (4,67; 8,83)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	22 (17; 36)	27,5 (18,8; 36,6)	8,57 (6,04; 12,66)
IL 1 $\beta$	Эпителий   Epithelium	12,63 (6,73; 24,06)	13,06 (13; 35,76)	27,02 (12,92; 29,91)
	Собственная пластинка   Lamina propria	–	8,25 (7,80; 10,79)	7,74 (6,14; 9,28)
	Иммунопозитивные клетки (воспалительных инфильтратов)   Immunopositive cells (inflammatory infiltrates)	39 (38; 42)	40 (38; 42)	24,9 (16,7; 33,0)

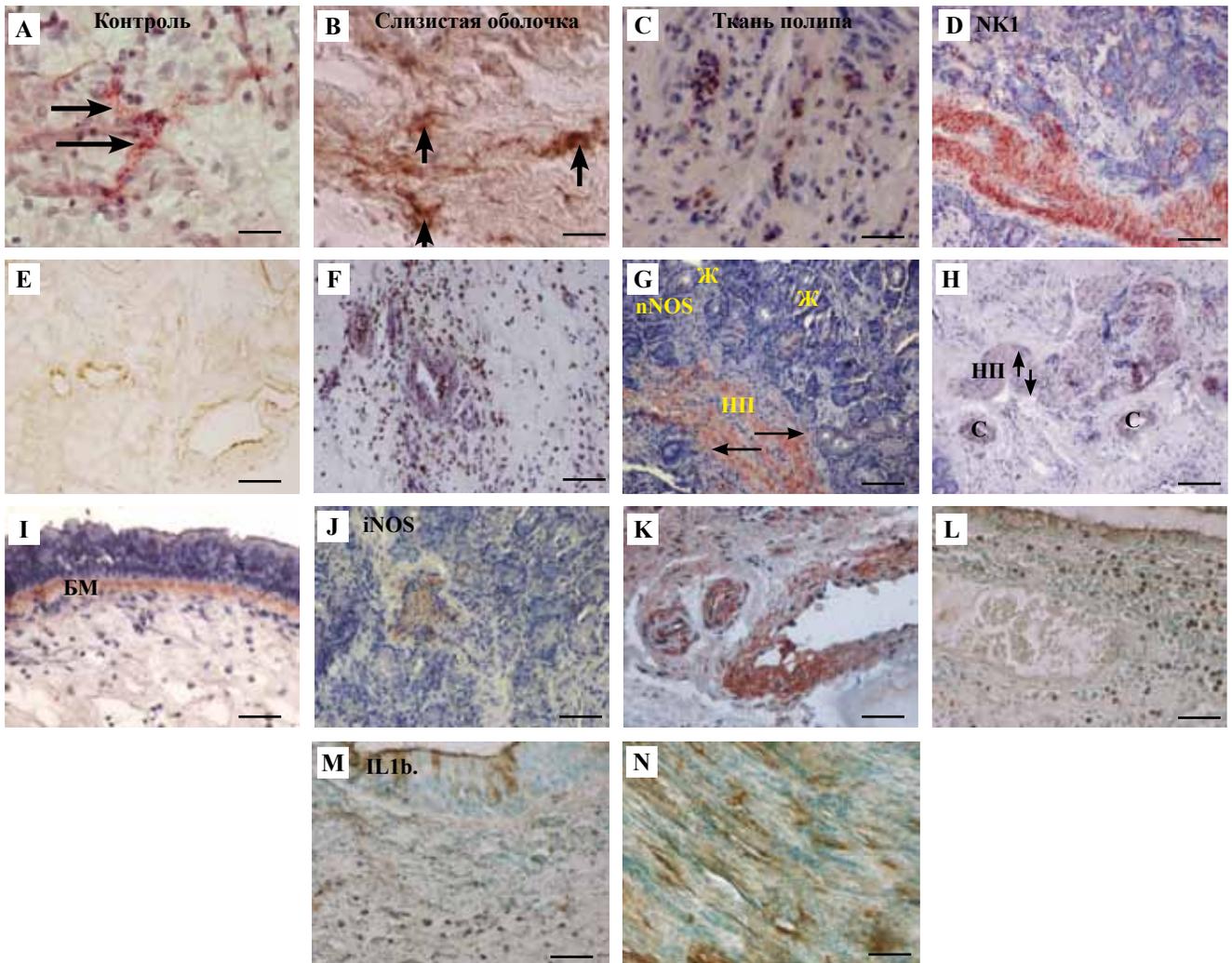
Статистически значимые отличия от группы сравнения ( $p \leq 0,05$ )

We noted statistically significant differences from the comparison group ( $p \leq 0.05$ )

большой популяции мононуклеарных клеток, а в ножке полипа маркировала единичные нервные волокна (табл. 3).

*Индукцибельная NOS (iNOS).* В СО полости носа у пациентов из группы сравнения экспрессия iNOS практически отсутствовала. Единственное место локализации фермента – верхняя часть эпителиоцитов выводных протоков желез (рис. 1 J). При наличии полипоза активность iNOS в СО значительно нарастала, в первую очередь за счет экспрессии фермента в стенке кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах (рис. 1 K) (табл. 2).

В полипозной ткани происходило нарастание активности данного маркера. В полипах отечного морфотипа iNOS экспрессировалась в реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитах и в клетках субэпителиального слоя (рис. 1 L). В строме данный фермент присутствовал в эндотелиоцитах сосудов и умеренно маркировал полиморфноядерные клетки воспалительных инфильтратов (табл. 3). В полипе аллергического типа iNOS выявлялась лишь в небольшой части эпителиоцитов, но экспрессировалась в обширной популяции клеток воспалительных инфильтратов. В полипах фиброзного типа высокая активность фермента



**Рис. 1.** Особенности локализации иммуногистохимических маркеров воспаления в слизистой оболочке носа группы сравнения (А, D, H, К), в слизистой оболочке при наличии в полости носа полипозного образования (В, Е, H, К, М) и в ткани полипа (С, F, I, L, N). А–С. Распределение активности вещества Р. А – афферентные нервные волокна (*стрелки*) в СО носа группы сравнения,  $\times 400$ . В – афферентные нервные волокна (*стрелки*) в собственной пластинке СО при полипах аллергического типа,  $\times 200$ . С – полип аллергического типа,  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на SP, докрасивание гематоксилином. D–F. Распределение активности нейрокининовых рецепторов NK1. D – СО носа, группа сравнения,  $\times 200$ . E – СО, полип отеочного типа,  $\times 200$ . F – полип аллергического типа,  $\times 200$ . Иммунопероксидазная реакция на NK1, докрасивание гематоксилином (D и F). G–I. Особенности распределения nNOS. G – СО носа, группа сравнения. Мощные пучки NO-ергических проводников (НП – нервные проводники) (Ж – железы),  $\times 200$ . H – СО при полипе аллергического типа. (НП – нервные проводники), (С – сосуды),  $\times 200$ . I – полип фиброзного типа. (БМ – базальная мембрана),  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на nNOS, докрасивание гематоксилином. J–L – особенности распределения iNOS. J – СО носа, группа сравнения,  $\times 200$ . K – полип фиброзного типа,  $\times 400$ . L – СО при полипе отеочного типа,  $\times 400$ . Иммунопероксидазная реакция на iNOS, докрасивание гематоксилином (J и K), докрасивание метиленовым зеленым (L). M, N – особенности распределения IL1 $\beta$ . M – СО при аллергическом типе полипов,  $\times 400$ . N – полип фиброзного типа,  $\times 200$ . Иммунопероксидазная реакция на IL1 $\beta$ , докрасивание метиленовым зеленым

**Fig. 1.** Immunohistochemical features of inflammatory marker localization in the nasal mucosa of the comparison group (A, D, H, K), in the mucous membrane with polyposis present in the nasal cavity (B, E, H, K, M), and in the polyp tissue (C, F, I, L, N). A – C. Distribution of the substance P activity. A – afferent nerve fibers (*arrows*) in the nasal mucosa of the comparison group,  $\times 400$ . B – afferent nerve fibers (*arrows*) in the nasal lamina propria in allergic type polyps,  $\times 200$ . C – allergic type polyp,  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to SP, counterstained with hematoxylin. D – F. Activity distribution of neurokinin NK1 receptors. D – nasal mucosa, comparison group,  $\times 200$ . E – nasal mucosa, polyp of edematous type,  $\times 200$ . F – allergic polyp type,  $\times 200$ . Immunoperoxidase reaction to NK1, counterstained with hematoxylin (D and F). G – I. nNOS distribution features. G – nasal mucosa, comparison group. Powerful bundles of NO-ergic conductors (НП – nerve conductors). (Ж – glands),  $\times 200$ . H – nasal mucosa in an allergic type polyp. (НП – nerve conductors, C – vessels),  $\times 200$ . I – fibrous polyp. (БМ – basement membrane),  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to nNOS, counterstained with hematoxylin. J – L. iNOS distribution features. J – nasal mucosa, comparison group,  $\times 200$ . K – fibrous polyp,  $\times 400$ . L – nasal mucosa in an edematous polyp,  $\times 400$ . Immunoperoxidase reaction to iNOS, counterstained with hematoxylin (J and K), counterstained with methylene green (L). M, N. IL1 $\beta$  distribution features. M – nasal mucosa in allergic polyp,  $\times 400$ . N – fibrous polyp,  $\times 200$ . Immunoperoxidase reaction to IL1 $\beta$ , counterstained with methylene green

регистровалась в субэпителиальной зоне полипов, стенке крупных кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах.

*Интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ )*. Активность провоспалительного цитокина в СО пациентов из группы сравнения не обнаружена. Развитие полипоза в полости носа сопровождалось экспрессией маркера как в СО нижних носовых раковин, так и в полипозно измененной ткани (табл. 2). В СО нижних носовых раковин цитокин регистрировался в клетках респираторного и железистого эпителия, стенке кровеносных сосудов и цитоплазме отдельных клеток в собственной пластинке (рис. 1 М). Описанные тканевые элементы маркированы на IL1 $\beta$  и в ткани полипов всех морфотипов. Кроме того, высокую интенсивность окрашивания приобретали клетки воспалительных инфильтратов, особенно в полипах аллергического и фиброзного типа, а также эндотелиальные клетки новообразованных сосудов (рис. 1 N).

## Обсуждение

Мы изучали распределение ряда маркеров, активность которых может определять особенности развития воспалительных процессов (в том числе нейрогенного воспаления) в СО носа, приводящих к формированию, прогрессированию и рецидиву ПРС. Основываясь на морфологической классификации полипозно измененных тканей [1, 2, 10] и учитывая данные о роли каждого из исследованных факторов в патогенезе пролиферативных и воспалительных заболеваний СО [1, 3, 14], мы провели детальную характеристику специфики тканевого распределения и активности компонентов нейрокининовой системы (вещество Р и его рецептор NK1), системы синтеза оксида азота (нейрональная и индуцибельная NO-синтаза) и провоспалительного цитокина IL1 $\beta$  в тканях полипа, а также на участках СО пациентов с ПРС.

Исследование показало, что SP-иммунореактивные элементы широко распространены в эпителии, железах и стенках сосудов как СО носа, так и ткани полипов. При сравнении активности SP в СО носа пациентов из группы сравнения и пациентов с полипами разного типа отмечено увеличение числа SP-позитивных нервных волокон и позитивных клеточных элементов воспалительных инфильтратов в тканях СО при аллергическом типе полипа. Можно предположить, что повышенная активность SP способствует перестройке ткани СО носа и провоцирует процесс полипообразования, который поддерживается феноменом нейрогенного воспаления. Подтверждением этому является избытие SP-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов, наблюдаемых в полипозно измененных тканях [11–13].

Описанные в нашем исследовании изменения в распределении маркера NK1 в тканях разного типа полипов и в СО нижних носовых раковин свидетельствуют

о причастности нейрокининовой системы к развитию патологического процесса. Уменьшение его активности в стенках кровеносных сосудов и нарастание NK1 в клеточных элементах лимфоидных инфильтратов, кровяного и железистого эпителия можно рассматривать как предпосылки к развитию пролиферативного процесса и активации сигнальных каскадов, поступающих через мембрану клеток однослойного многоядного мерцательного эпителия. Индуцируемое нейрокининами увеличение секреции в железах, повышение сосудистой проницаемости, экстравазация плазмы крови и развитие нейрогенного воспаления могут способствовать прогрессированию отечных и воспалительных изменений в СО полости носа [11, 13, 15].

При развитии ПРС наблюдается общая тенденция к увеличению содержания nNOS-позитивных клеточных элементов на фоне снижения активности маркера в нервных волокнах. Активность маркера обнаруживается в эндотелиоцитах кровеносных сосудов, клетках стромы и особенно выражена в субэпителиальной зоне. Известно, что NO может выступать в качестве координатора местных нейроиммунных механизмов ремоделирования СО полости носа, что, в свою очередь, и способствует усилению рецидивирования ПРС [9, 10, 14].

Наряду с этим настоящее исследование выявило значительное нарастание активности iNOS как в СО, так и в тканях полипов, что свидетельствует о том, что данный фермент играет важную роль в патогенезе ПРС. Секретируемый индуцибельной NOS оксид азота, повышая проницаемость сосудистой стенки, способен усиливать отек стромы, миграцию воспалительных клеток в строму СО и секрецию слизи в железах и бокаловидных клетках. Активация данных патогенетических факторов способствует образованию и рецидивизирующему течению ПРС [9, 10, 14].

Описанные выше изменения распределения активности IL1 $\beta$  свидетельствуют о том, что развитие ПРС вовлекает в воспалительный процесс всю СО полости носа, а также формирует предпосылки для прогрессирования или рецидива новых полипов в полости носа после хирургического лечения [3, 6, 12].

При подробной характеристике каждого типа ПРС можно проследить основные изменения в СО. В отечном типе полипа выявлено уменьшение активности SP в СО нижних носовых раковин и в самой ткани полипов, но значительно уменьшается влияние нейрокининовой системы на стенку кровеносных сосудов, такие изменения могут служить предпосылкой для рецидива ПРС [16]. Активность маркеров nNOS и iNOS в полипе отечного типа наблюдается в железистых, реснитчатых и бокаловидных эпителиоцитах и в клетках субэпителиальной зоны.

В развитии аллергического типа полипов высокая активность SP наблюдается в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов, но влияние нейрокининовой системы уменьшено и практически исчезает

в эпителии. Активность нейрональной NOS нарастает в стенке кровеносных сосудов, но уменьшается в нервных волокнах. При аллергическом типе полипов наблюдается повышенная активность iNOS, а также IL1 $\beta$  в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов собственной пластинки.

В полипах фиброзного типа активность SP уменьшена, но преобладает активность рецепторов NK1-позитивных клеточных элементов в составе воспалительных инфильтратов. Активность pNOS повышена в эпителиоцитах желез и небольшой популяции мононуклеарных клеток. Высокая активность iNOS регистрируется в субэпителиальной зоне полипов, стенке крупных кровеносных сосудов и железистых эпителиоцитах. Повышенная активность IL1 $\beta$  выявлена в цитоплазме клеток воспалительных инфильтратов.

### Заключение

Формирование полипозных изменений в полости носа неизменно сопровождается морфохимическими изменениями на участках слизистой оболочки полости носа. Развитию разных морфологических изменений в полипе сопутствует селективная перестройка на отдаленных участках слизистой оболочки носа. Изменения в слизистой оболочке нижних носовых раковин у пациентов с полипозным риносинуситом предрасполагают к развитию полипов разного морфологического типа.

Полученные данные свидетельствуют о наличии специфического сигнального микроокружения в СО носа, обеспечивающего особые условия для развития разных типов полипозного риносинусита.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.  
Сбор и обработка материала – Д.Г. Павлуш.  
Написание текста – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.  
Редактирование – Д.Г. Павлуш, И.В. Дюйзен.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.G. Pavlush, I.V. Dyuiizen.  
Collected the data and performed the analysis – D.G. Pavlush.  
Wrote the paper – D.G. Pavlush, I.V. Dyuiizen.  
Edited the manuscript – D.G. Pavlush, I.V. Dyuiizen.

### Литература/References

1. Павлуш Д.Г., Дюйзен И.В. Морфологическая характеристика различных типов полипозного риносинусита. Российская оториноларингология. 2019;18(1):76–82. DOI: 10.18692/1810-4800-2019-1-76-82.  
Pavlush DG, Dyuiizen IV. Morphological characteristics of various types of polypous rhinosinusitis. Russian otorhinolaryngology. 2019;18(1):76–82 (In Russ.). DOI: 10.18692/1810-4800-2019-1-76-82.
2. Матвеева Н.Ю., Павлуш Д.Г., Калинин С.Г. Экспрессия про- и антиапоптотических молекул в слизистой оболочке полости носа при полипозном риносинусите. Вестник оториноларингологии. 2020;85(3):43–47. DOI: 10.17116/otorino20208503143.  
Matveeva NYu, Pavlush DG, Kalinichenko SG. Expression of pro- and anti-apoptotic molecules in the mucous membrane of the nasal cavity with polypous rhinosinusitis. Bulletin of otorhinolaryngology. 2020;85(3):43–47 (In Russ.). DOI: 10.17116/otorino20208503143.
3. Brescia G, Sfriso P, Marioni G. Role of blood inflammatory cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Acta Otolaryngol. 2019;139(1):48–51. DOI: 10.1080/00016489.2018.1538567.
4. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2020. Rhinology. 2020;58(Suppl S29):1–464. DOI: 10.4193/Rhin20.600.
5. Malekzadeh S, McGuire JF. The new histologic classification of chronic rhinosinusitis. Curr Allergy Asthma Rep. 2003;3(3):221–6. DOI: 10.1007/s11882-003-0043-4.
6. Hulse KE, Stevens WW, Tan BK, Schleimer RP. Pathogenesis of nasal polyposis. Clin Exp Allergy. 2015;45(2):328–46. DOI: 10.1111/cea.12472.
7. Newton JR, Ah-See KW. A review of nasal polyposis. Ther Clin Risk Manag. 2008;4(2):507–12. DOI: 10.2147/tcrm.s2379.
8. Cannady SB, Batra PS, Leahy R, Citardi MJ, Janocha A, Ricci K et al. Signal transduction and oxidative processes in sinonasal polyposis. J Allergy Clin Immunol. 2007;120(6):1346–53. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.07.067.
9. Degano B, Valmary S, Serrano E, Brousset P, Arnal J-F. Expression of nitric oxide synthases in primary ciliary dyskinesia. Hum Pathol. 2011;42(12):1855–61. DOI: 10.1016/j.humpath.2011.01.027.
10. Frendo M, Håkansson K, Schwer S, Ravn AT, Meteran H, Porsbjerg C et al. Exhaled and nasal nitric oxide in chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps in primary care. Rhinology. 2018;56(1):59–64. DOI: 10.4193/Rhin17.111.
11. Lonergan A, Theoharides T, Tsilioni E, Rebeiz E. Substance P and Hemokinin 1 in nasal lavage fluid of patients with chronic sinusitis and nasal polyposis. OTO Open. 2019;3(3):2473974X19875076. DOI: 10.1177/2473974X19875076.
12. Tengroth L, Arebro J, Larsson O, Bachert C, Georén SK, Cardell L-O. Activation of Activin receptor-like kinases curbs mucosal inflammation and proliferation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Sci Rep. 2018;8(1):1561. DOI: 10.1038/s41598-018-19955-1.
13. Canning BJ. Neurokinin3 receptor regulation of the airways. Vascul Pharmacol. 2006;45(4):227–34. DOI: 10.1016/j.vph.2005.08.031.
14. Sadek AA, Abdelwahab S, Eid SY, Almaimani RA, Althubiti MA, El-Readi MZ. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in allergic and nonallergic nasal polyp. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019:7506103. DOI: 10.1155/2019/7506103.
15. Mohamad S, Hamid SSA, Azlina A, Md Shukri N. Association of IL-1 gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyp. Asia Pac Allergy. 2019;9(3):e22. DOI: 10.5415/apallergy.2019.9.e22.
16. Gurrola J, Borish L. Chronic rhinosinusitis: Endotypes, biomarkers, and treatment response. J Allergy Clin Immunol. 2017;140(6):1499–508. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.10.006.

### **Информация об авторах**

Дмитрий Георгиевич Павлуш – старший преподаватель кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Инесса Валерьевна Дюйзен – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией фармакологии Национального научного центра морской биологии ДВО РАН.

### **Author information**

Dmitry G. Pavlush – Senior Lecturer, Department of Histology, Embryology and Cytology, Pacific State Medical University.  
<https://orcid.org/0000-0003-4794-9777>

Inessa V. Dyuzen – Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Pharmacology, A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology.  
<https://orcid.org/0000-0002-9820-1112>

## Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, влияющие на рецидив заболевания

М.А. Гусниев<sup>1</sup>, В.В. Печникова<sup>1</sup>, С.А. Гусниев<sup>1</sup>, М.Ю. Гуцин<sup>1</sup>,  
З.В. Гиоева<sup>2</sup>, А.М. Пишихачев<sup>3</sup>, Л.М. Михалева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России, Владикавказ, Россия

<sup>3</sup> Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*Введение.* Рак мочевого пузыря – наиболее распространенное злокачественное новообразование мочевыделительной системы, которое представлено несколькими подтипами – мышечно-неинвазивными (поверхностными), мышечно-инвазивными и метастатическими опухолями. Известно, что мышечно-неинвазивные опухоли рецидивируют в 40–60% случаев и прогрессируют у 10–30% пациентов, поэтому существует потребность в систематизации информации и разработке эффективных схем прогноза рецидива и прогрессии, касающейся мышечно-неинвазивных типов опухолей, для индивидуального подхода к лечению и наблюдению данной группы пациентов. Цель исследования – оценка влияния клинико-морфологических особенностей мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря на риск развития рецидива заболевания.

*Материалы и методы.* В работе проведен ретроспективный анализ данных 100 пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря после стандартной методики лечения с дальнейшим разделением на две группы в зависимости от наличия или отсутствия рецидива заболевания. Внутри каждой группы оценивали пол, возраст, размеры опухоли, число очагов поражения, степень дифференцировки при первичном и повторном обращении, а также время наступления рецидива в соответствующей группе пациентов.

*Результаты.* Патоморфологический тип опухоли (ПАТО) высокой степени дифференцировки (G1) имел в среднем меньший размер, чем типы ПАТО умеренной (G2) и низкой (G3) степени дифференцировки ( $p=0,002$ ). Множественное поражение мочевого пузыря практически в 2 раза чаще приводило к рецидивам заболевания, чем наличие одиночной опухоли ( $p=0,001$ ). При увеличении размеров опухолевого образования и при снижении степени дифференцировки достоверно увеличивался риск рецидива ( $p=0,05$ ;  $p=0,01$  для степеней G2 и G3, соответственно).

*Заключение.* Данные исследования показывают, что клинико-морфологические параметры (патоморфологический тип опухоли, объем поражения мочевого пузыря, размеры образования) связаны с рецидивным течением рака мочевого пузыря.

**Ключевые слова:** мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря, рак мочевого пузыря, онкология, патологическая анатомия, рецидив рака мочевого пузыря, клинико-морфологические особенности

**Для корреспонденции:** Людмила Михайловна Михалева. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

**Для цитирования:** Гусниев М.А., Печникова В.В., Гусниев С.А., Гуцин М.Ю., Гиоева З.В., Пишихачев А.М., Михалева Л.М. Клинико-морфологические особенности мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, влияющие на рецидив заболевания. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):39–46. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.39-46.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 11.05.2021. Получена после рецензирования 24.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Clinical and histological features of non-muscle invasive bladder cancer affecting tumor recurrence

M.A. Gusniev<sup>1</sup>, V.V. Pechnikova<sup>1</sup>, S.A. Gusniev<sup>1</sup>, M.Yu. Gushchin<sup>1</sup>,  
Z.V. Gioeva<sup>2</sup>, A.M. Pshikhachev<sup>3</sup>, L.M. Mikhaleva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Vladikavkaz, Russia

<sup>3</sup> Medical Research and Educational Center of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Introduction.** Bladder cancer is the most common malignant neoplasm of the urinary system, which is represented by non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC), muscle invasive bladder cancer (MIBC), and metastatic tumors. NMIBCs are known to recur in 40–60% of cases and progress in 10–30% of patients. Therefore, information needs to be systematized and effective schemes for the prognosis and individual treatment for NMIBC, developed. The aim of the study was to assess the influence of clinical and histological features of the tumor on the recurrence risk in patients with NMIBC.

**Materials and methods.** We performed a retrospective analysis of the medical histories of 100 patients with NMIBC after standard treatment. The patients were subsequently divided into two groups depending on the presence or absence of recurrent tumor. On initial and follow-up examinations, we studied sex, age, tumor size, number of lesions, degree of tumor differentiation, and the time of recurrence in the corresponding group of patients.

**Results.** On average, the histological type of tumor with a high degree of differentiation (G1) had a smaller tumor size than histological types of tumor of moderate (G2) and low (G3) differentiation ( $p=0.02$ ). Multiple bladder lesions almost twice as often resulted in recurrent neoplasms than single tumors ( $p=0.01$ ). The risk of recurrence significantly reduced with increasing tumor size and decreasing degree of differentiation ( $p=0.5$ ; and  $p=0.01$  for G2 and G3, respectively).

**Conclusion.** The research data show that clinical and histological features (histological type of tumor, the extension of the bladder lesion, and tumor size) are interrelated with recurrent bladder cancer.

**Keywords:** non-muscle invasive bladder cancer, bladder cancer, oncology, pathology, recurrence of bladder cancer, clinical and histological features

**Corresponding author:** Lyudmila M. Mikhaleva. E-mail: mikhalevalm@yandex.ru

**For citation:** Gusniev M.A., Pechnikova V.V., Gusniev S.A., Gushchin M.Yu., Gioeva Z.V., Pshikhachev A.M., Mikhaleva L.M. Clinical and histological features of non-muscle invasive bladder cancer affecting tumor recurrence. *Clin. exp. morphology*. 2021;10(3):39–46. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.39-46 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 11.05.2021. **Received in revised form** 24.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

### Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) – наиболее распространенное злокачественное новообразование мочевыделительной системы. Уротелиальная карцинома является преобладающим гистологическим типом у пациентов в США и Европе, так как на данный тип опухоли приходится около 90% всех случаев РМП [1]. В структуре онкологической заболеваемости РМП, по разным данным, занимает от четвертого до седьмого места у мужчин и одиннадцатое у женщин [2–6]. Сегодня РМП остается важной медицинской и социальной проблемой в связи с высокой смертностью и инвалидизацией трудоспособного населения. Кроме того, лечение пациентов с РМП приводит к значительной финансовой нагрузке на систему здравоохранения [7–9].

По степени инвазии выделяют несколько форм РМП: мышечно-неинвазивные (поверхностные), мышечно-инвазивные и метастатические опухоли. Мышечно-неинвазивный РМП представляет собой опухоль, ограниченную слизистой оболочкой (T<sub>a</sub> – не-

инвазивный папиллярный рак, T<sub>is</sub> – рак *in situ*, T<sub>1</sub> – рак, ограниченный собственной пластинкой слизистой оболочки). Данный подтип РМП, как известно, рецидивирует в 40–60% случаев и прогрессирует у 10–30% пациентов со снижением степени дифференцировки опухоли [10, 11].

По мнению экспертов, совокупность клинических и морфологических данных пациентов необходимо объединить в единые системы классификации рисков, которые облегчат ведение таких больных [12–21]. Так, в данный момент существует потребность в систематизации информации и разработке эффективных схем прогноза рецидива и прогрессии, касающейся мышечно-неинвазивных типов опухолей, для индивидуального подхода к лечению и наблюдению данной группы пациентов. Таким образом, целью работы стала оценка влияния клинико-морфологических особенностей опухоли на риск развития рецидива РМП у пациентов с мышечно-неинвазивным типом новообразования.

## Материалы и методы

В настоящее ретроспективное нерандомизированное исследование были включены 100 пациентов с верифицированным уротелиальным мышечно-неинвазивным РМП. Для выполнения работы использованы следующие методы: клинический (сбор анамнеза, физикальный осмотр), лабораторный (клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи), инструментальный (трансуретральная биопсия мочевого пузыря, ультразвуковое исследование, рентгенография легких, остеосцинтиграфия скелета, компьютерная томография/магнитно-резонансная томография), патоморфологический (гистологическое исследование биопсийного и операционного материала с окрашиванием гематоксилином и эозином).

Исследование включало 69 мужчин и 31 женщину в возрасте от 32 до 94 лет, средний возраст составил  $69,7 \pm 10,7$  года. Каждому участнику выполнялась трансуретральная резекция мочевого пузыря (ТУР) с последующими инстилляциями митомицином С (6 курсов) в период с 2015 по 2020 год. После проведения химиотерапии пациенты повторно являлись с целью контроля эффективности проводимого лечения через 6 месяцев, 1 год, 3 года и 5 лет после постановки диагноза. По результатам контрольной явки пациенты были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия рецидива заболевания. Внутри каждой группы сравнивали пол, возраст пациентов, наличие клинических проявлений (макрогематурия), сопутствующих заболеваний, были оценены размеры опухолевого поражения ( $<0,5$  см;  $0,6-1$  см;  $1,1-1,5$  см;  $1,6-2$  см;  $>2$  см), локализация новообразований по отношению к стенкам мочевого пузыря, число злокачественных фокусов, патоморфологический тип опухоли (ПАТО) – высоко-, умеренно-, низкодифференцированные (G1; G2; G3, соответственно) (рис. 1) при первичном и повторном обращении. В группе с прогрессирующим течением заболевания учитывался временной промежуток наступления рецидива.

Для патоморфологического исследования фрагменты тканей мочевого пузыря фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина в течение 72 часов с дальнейшей гистологической проводкой материала в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 300S (Германия). После заливки материала в парафин на станции Leica EG 1160 (Германия) изготавливали гистологические срезы толщиной 3–4 мкм с помощью микротомы LeicaRM 2125 RTS (Германия) с последующим их окрашиванием гематоксилином и эозином.

При статистической обработке данных использовалась программная среда R версии 3.6.1 для Windows. Применялись непараметрический U-критерий Манна–Уитни, точный тест Фишера, модель логистической регрессии (МЛР), коэффициент корреляции Спирмена. Результаты считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

*Клинико-демографические особенности популяции.* В ходе работы были обработаны данные 100 пациентов с одиночным и множественным мышечно-неинвазивным РМП, с размерами опухолей от  $\leq 0,5$  см до  $\geq 2$  см. В исследовании приняли участие 69 мужчин (69%) и 31 женщина (31%), средний возраст составил  $69,7 \pm 10,7$  года. Средняя величина новообразований соответствовала  $2,27 \pm 1,8$  см, далее размеры были разделены на 5 категорий:  $<0,5$  см (1-я категория);  $0,6-1$  см (2-я категория);  $1,1-1,5$  см (3-я категория);  $1,6-2$  см (4-я категория);  $>2$  см (5-я категория). Частота встречаемости данных категорий составила 17, 20, 14, 11, 38%, соответственно. Наиболее часто встречались мышечно-неинвазивные опухоли (87%), степень дифференцировки преимущественно была умеренной (G2). У 86% пациентов было одиночное поражение органа опухолью, у 14% множественное. У более половины пациентов установлен рецидив РМП (54%), а также выявлены клинические проявления – примесь крови в моче (54%). Отмечено, что большая часть пациентов (89%) имела сопутствующие заболевания.

Сравнение групп с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни показало, что женщины в группе в среднем старше мужчин ( $Ж - 72,9 \pm 8,65$  года,  $М - 67,36 \pm 11,25$  года, уровень значимости 95%,  $p = 0,03$ ).

При сравнении средних размеров опухоли, а также локализации опухолевого поражения относительно возраста пациентов статистическая значимость не обнаружена. При сравнении частоты встречаемости размеров опухоли, локализации опухолевого поражения и наступления рецидива для мужчин и женщин с помощью точного теста Фишера значимое различие не выявлено.

*Патоморфологический тип и размеры опухоли.* Сравнение средних размеров опухоли в группах ПАТО (обобщенная линейная модель для гамма-распределения) выявило значимые различия между группой G1 ( $n=30$ ,  $M=1,36$ ) и группами G2 ( $n=46$ ,  $M=2,6$ ,  $p=0,002$ ) и G3 ( $n=24$ ,  $M=2,79$ ,  $p=0,002$ ). Значимые различия между группами G2 и G3 не обнаружены ( $p=0,697$ ).

При сравнении частоты встречаемости размеров опухоли в группах по типам ПАТО с помощью точного теста Фишера было показано значимое различие (табл. 1).

Таким образом, предполагается, что тип ПАТО G1 имеет в среднем меньший размер опухолей, чем типы ПАТО G2 и G3. При сравнении размеров и частоты встречаемости размеров в группах G2 и G3 различия не выявлены.

Сравнение среднего возраста в группах ПАТО (парное тестирование с помощью U-критерия Манна–Уитни и поправкой Бонферрони на множественное тестирование) выявило значимые различия в возрасте между группой G1 ( $n=30$ ; медиана=66) и группами G2 ( $n=46$ ; медиана=70;  $p=0,022$ ) и G3 ( $n=24$ ; медиана=72,5;  $p=0,03$ ).

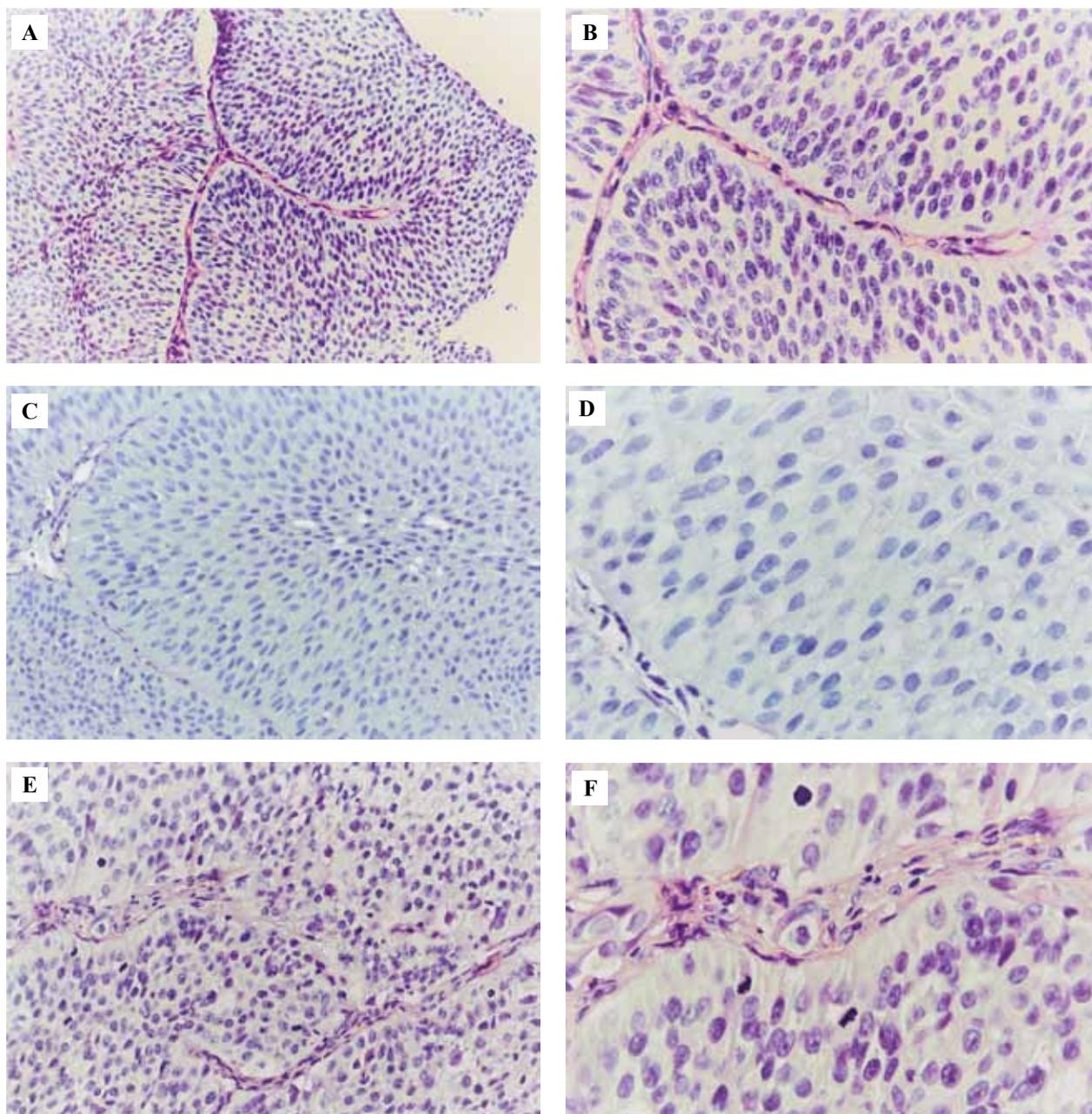


Рис. 1. Патоморфологические типы (ПАТО) мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

А – высокодифференцированный (G1) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря – отсутствие выраженного полиморфизма (ядра униформные, вытянутые, полярность клеток сохранена) и митозов. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ . В – высокодифференцированный (G1) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ . С – умереннодифференцированный (G2) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря – умеренно выраженные изменения полярности клеток, увеличение размеров и формы ядер. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ . D – умереннодифференцированный (G2) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ . E – низкодифференцированный (G3) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря – выраженная дезорганизация цитоархитектоники клеток, значительная ядерная атипия и полиморфизм, грубый хроматин, большое количество митозов. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ . F – низкодифференцированный (G2) мышечно-неинвазивный рак мочевого пузыря. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$

Fig. 1. The histological types of NMIBCs.

A – well-differentiated (G1) NMIBC: no pronounced polymorphism (nuclei are uniform and elongated; cell polarity is preserved) and mitoses. H&E stain,  $\times 200$ . B – well-differentiated (G1) NMIBC. H&E stain,  $\times 400$ . C – moderately differentiated (G2) NMIBC: moderately pronounced changes in cell polarity, an increase in the size and shape of nuclei. H&E stain,  $\times 200$ . D – moderately differentiated (G2) NMIBC. H&E stain,  $\times 400$ . E – poorly differentiated (G3) NMIBC: pronounced disorganization of cell cytoarchitectonics, significant nuclear atypia, and polymorphism, coarse chromatin, a large number of mitoses, and desquamation of tumor cells. H&E stain,  $\times 200$ . F – poorly differentiated (G2) NMIBC. H&E stain,  $\times 400$

Таблица 1 | Table 1

Распределение частоты встречаемости размеров опухоли по отношению к патоморфологическому типу опухоли (ПАТО) | Distribution of tumor size incidence in relation to the histological tumor type (НТТ)

ПАТО   НТТ	Размер опухоли   Tumor size					p*
	<0,5 см (1-я категория)   <0.5 cm (1st category)	0,6–1 см (2-я категория)   0.6–1 cm (2nd category)	1,1–1,5 см (3-я категория)   1.1–1.5 cm (3rd category)	1,6–2 см (4-я категория)   1.6–2 cm (4th category)	>2 см (5-я категория)   >2 cm (5th category)	
G1 (высокодифференцированная)   G1 (well-differentiated)	10 (33,3%)	9 (30%)	4 (13,4%)	2 (6,7%)	5 (16,6%)	0,009
G2 (умереннодифференцированная)   G2 (moderately differentiated)	7 (15,2%)	6 (13%)	6 (13%)	7 (15,2%)	20 (43,6%)	
G3 (низкодифференцированная)   G3 (poorly differentiated)	0 (0%)	5 (20,8%)	4 (16,7%)	2 (8,3%)	13 (54,2%)	

\*p – уровень статистической значимости различий, обнаруженных при сравнении показателей в группе сравнения (критерий Фишера)

\*p – the level of statistical significance of the differences in comparing indicators in the comparison group (Fisher's test)

Таблица 2 | Table 2

Оценка значимости влияния размеров опухоли на наступление рецидива | Assessment of the significance of tumor size effect on the relapse

Параметр   Parameter	Отношение шансов   Odds ratio	p
Размер опухоли 1,1–1,5 см / размер опухоли <0,5 см   Tumor size 1.1–1.5 cm / tumor size <0.5 cm	15,71	0,01
Размер опухоли 1,6–2 см / размер опухоли <0,5 см   Tumor size 1.6–2 cm / tumor size <0.5 cm	7,87	0,05
Размер опухоли >2 см / размер опухоли <0,5 см   Tumor size >2 cm / tumor size <0.5 cm	20,63	0,0005
Единичная опухоль / множественная опухоль   Single tumor / multiple tumor	0,14	0,08

Анализ влияния клинических и патоморфологических факторов на рецидив опухоли. В ходе наблюдения обнаружено, что рецидив наступил у 54 пациентов группы (54%) в течение промежутка времени от 6 месяцев до 5 лет. Мы оценивали значимость влияния размеров опухоли на наступление рецидива – первого рецидива, повторных (при наличии) и без учета времени наступления рецидива – с коррекцией на возможное влияние возраста и пола пациентов, а также множественности и локализации образования с помощью МЛР (табл. 2).

При увеличении размеров достоверно увеличивался шанс рецидива, однако у пациентов, попавших во 2-ю категорию (0,6–1 см), результаты оказались незначимыми, возможно, ввиду разнородности выборки. Также было показано, что у пациентов с одиночной опухолью имелась тенденция к более низким шансам рецидива по этой модели. Настоящие результаты совпадают с данными, полученными зарубежными коллегами, например, А. Lee et al. и М. Miyake et al. в своих работах

описали взаимосвязь размеров опухоли и времени наступления рецидива [15, 22]. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [23–29].

При изучении влияния ПАТО на вероятность рецидива с помощью МЛР получены следующие результаты: отношение шансов (ОШ) группы G2 к группе G1 составило 2,79 (p=0,05), а ОШ группы G3 к группе G1 4,78 (p=0,01). Таким образом, умеренная и низкая степени дифференцировки злокачественных опухолей мочевого пузыря были ассоциированы с более высокими шансами рецидива. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена между ПАТО и категориями размера опухоли оказался равен 0,37 и значимо отличался от нуля (p=0,0001). Согласно полученным результатам нашего исследования, а также данным большого числа авторов, мышечно-неинвазивный рак с высокой дифференцировкой имеет низкий потенциал рецидивирования, однако ряд авторов считает, что таким пациентам показано активное динамическое наблюдение даже

Таблица 3 | Table 3

**Определение частоты рецидива в зависимости от числа опухолевых поражений | Determination of the recurrence rate depending on the multiplicity of the tumor**

Тип опухоли   Tumor type	Отсутствие рецидива   No relapse	Рецидив   Relapse	P*
Одиночная   Single	45 (52,3%)	41 (47,7%)	0,001
Множественная   Multiple	1 (7,1%)	13 (92,9%)	

\*p – уровень статистической значимости различий, обнаруженных при сравнении показателей в группе сравнения (критерий Фишера)

\*p – the level of statistical significance of the differences in comparing indicators in the comparison group (Fisher's test)

после преодоления порога 5-летней выживаемости, так как возможность прогнозирования со временем имеет тенденцию к снижению [30, 31].

Показатель частоты наступления рецидива для множественных и одиночных опухолей продемонстрировал значимое различие (табл. 3). Так, множественное поражение мочевого пузыря практически в 93% наблюдений приводило к рецидиву заболевания, тогда как при наличии одиночной опухоли данное явление встречалось чуть менее чем в половине случаев (47,7%). Аналогичные результаты были получены в работе M. Miyake et al. при анализе когорты из 1555 пациентов [22].

### Заключение

В ходе исследования установлено, что опухоли патоморфологического типа G1 имели в среднем меньший размер, чем образования типов G2 и G3 ( $p=0,002$ ). Показано, что средний возраст пациентов в подгруппах умеренно- и низкодифференцированных злокачественных опухолей выше, чем в подгруппе с новообразованиями высокой степени дифференцировки ( $p=0,022$ ,  $p=0,03$ , соответственно). Отмечено, что множественное поражение мочевого пузыря приводило к рецидивам практически в 2 раза чаще, чем наличие одиночной опухоли ( $p=0,001$ ). При увеличении размеров образования и при снижении степени дифференцировки достоверно увеличивались шансы рецидива ( $p<0,05$  для четырех из пяти категорий). Настоящее исследование имело ограничения в связи с относительно небольшими размерами выборки, ее несбалансированностью, ретроспективной оценкой данных, отсутствием возможностей рандомизации пациентов и информации о наличии вредных факторов (например, курение в анамнезе, работа на производстве с анилиновыми красителями, наличие хронических воспалительных заболеваний мочевыводящих путей). Тем не менее полученные результаты показали перспективу для будущей оптимизации клинических рекомендаций по ведению пациентов с мы-

шечно-неинвазивным раком мочевого пузыря. Таким образом, учитывая особенность дизайна работы, необходимо продолжение проспективного исследования для наблюдения данной группы пациентов и дальнейшего выявления клинико-морфологических особенностей мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря.

### Список сокращений

МЛР – модель логистической регрессии

ОШ – отношение шансов

ПАТО – патоморфологический тип опухоли

РМП – рак мочевого пузыря

ТУР – трансуретральная резекция мочевого пузыря

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Михалева,

А.М. Пшихачев.

Сбор и обработка материала – М.А. Гусниев, В.В. Печникова.

Написание текста – М.А. Гусниев, В.В. Печникова, С.А. Гусниев, М.Ю. Гушин, З.В. Гюева.

Редактирование – Л.М. Михалева, В.В. Печникова.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.M. Mikhaleva,

A.M. Pshikhachev.

Collected the data and performed the analysis – M.A. Gusniev,

V.V. Pechnikova.

Wrote the paper – M.A. Gusniev, V.V. Pechnikova, S.A. Gusniev,

M.Yu. Gushchin, Z.V. Goeva.

Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva, V.V. Pechnikova.

### Литература/References

1. Mikhaleva LM, Pechnikova VV, Pshikhachev AM, Rogov KA, Gusniev MA, Patsap OI et al. Bladder cancer: Update on risk factors, molecular and ultrastructural patterns. *Curr Med Chem*. 2021. DOI: 10.2174/0929867328666210309111731.
2. Kamat AM, Bağcıoğlu M, Huri E. What is new in non-muscle-invasive bladder cancer in 2016? *Turk J Urol*. 2017;43(1):9–13. DOI: 10.5152/tud.2017.60376.
3. Yoshida T, Kates M, Fujita K, Bivalacqua TJ, McConkey DJ. Predictive biomarkers for drug response in bladder cancer. *Int J Urol*. 2019;26(11):1044–53. DOI: 10.1111/iju.14082.
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(1):7–33. DOI: 10.3322/caac.21654.
5. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, Znaor A, Jemal A, Bray F. Bladder cancer incidence and mortality: A global overview and recent trends. *Eur Urol*. 2017;71(1):96–108. DOI: 10.1016/j.eururo.2016.06.010.
6. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, Cheng L et al. Bladder cancer: Epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology*. 2005;66(6 Suppl 1):4–34. DOI: 10.1016/j.urology.2005.07.062.
7. Mossanen M, Wang Y, Szymaniak J, Tan WS, Huynh MJ, Preston MA et al. Evaluating the cost of surveillance for non-muscle-invasive bladder cancer: An analysis based on risk categories. *World J Urol*. 2019;37(10):2059–65. DOI: 10.1007/s00345-018-2550-x.
8. Sievert KD, Amend B, Nagele U, Schilling D, Bedke J, Horstmann M et al. Economic aspects of bladder cancer: What

- are the benefits and costs? *World J Urol.* 2009;27(3):295–300. DOI: 10.1007/s00345-009-0395-z.
9. *Mossanen M, Gore JL.* The burden of bladder cancer care: Direct and indirect costs. *Curr Opin Urol.* 2014;24(5):487–91. DOI: 10.1097/MOU.000000000000078.
  10. *Babjuk M, Burger M, Compérat EM, Gontero P, Mostafid AH, Palou J et al.* European association of urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ) – 2019 update. *Eur Urol.* 2019;76(5):639–57. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.08.016.
  11. *Пишихачев А.М., Михалева Л.М., Гусниев М.А., Печникова В.В., Полянко Н.И., Сорокин Н.И. и др.* Клинико-морфологические особенности немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря: влияние на лечение, прогноз и рецидив заболевания (обзор литературы). *Онкоурология.* 2021;17(1):134–141. DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141.
  - Pshikhachev AM, Mikhaleva LM, Gusniev MA, Pechnikova VV, Polyanko NI, Sorokin NI et al.* Clinical and morphological features of non-muscle invasive bladder cancer: implications for treatment, prognosis and relapse of the disease (literature review). *Cancer Urology.* 2021;17(1):134–141 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2021-17-1-134-141.
  12. *Chen MK, Chen ZJ, Xiao KH, Qin ZK, Ye YL, Wen WJ et al.* Predictive value of cadherin-11 for subsequent recurrence and progression in non-muscle invasive bladder cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2020;50(4):456–64. DOI: 10.1093/jjco/hyz186.
  13. *Descotes F, Kara N, Decaussin-Petrucci M, Piaton E, Geiguer F, Rodriguez-Lafrasse C et al.* Non-invasive prediction of recurrence in bladder cancer by detecting somatic TERT promoter mutations in urine. *Br J Cancer.* 2017;117(4):583–7. DOI: 10.1038/bjc.2017.210.
  14. *Simon M, Bosset PO, Rouanne M, Benhamou S, Radulescu C, Molinié V et al.* Multiple recurrences and risk of disease progression in patients with primary low-grade (TaG1) non-muscle-invasive bladder cancer and with low and intermediate EORTC-risk score. *PloS One.* 2019;14(2):e0211721. DOI: 10.1371/journal.pone.0211721.
  15. *Lee A, Lee HJ, Huang HH, Ho H, Chen K.* Low-risk non-muscle-invasive bladder cancer: Further prognostic stratification into the “very-low-risk” group based on tumor size. *Int J Urol.* 2019;26(4):481–6. DOI: 10.1111/iju.13913.
  16. *Fujii Y.* Prediction models for progression of non-muscle-invasive bladder cancer: A review. *Int J Urol.* 2018;25(3):212–8. DOI:10.1111/iju.13509.
  17. *Fujita N, Hatakeyama S, Momota M, Tobisawa Y, Yoneyama T, Yamamoto H et al.* Impact of substratification on predicting oncological outcomes in patients with primary high-risk non-muscle-invasive bladder cancer who underwent transurethral resection of bladder tumor. *Urol Oncol.* 2020;38(10):795.e9–795.e17. DOI: 10.1016/j.urolonc.2020.04.023.
  18. *Chang SS, Bochner BH, Chou R, Dreicer R, Kamat AM, Lerner SP et al.* Treatment of non-metastatic muscle-invasive bladder cancer: AUA/ASCO/ASTRO/SUO guideline. *J Urol.* 2017;198(3):552–9. DOI: 10.1016/j.juro.2017.04.086.
  19. *Woldu SL, Bagrodia A, Lotan Y.* Guideline of guidelines: Non-muscle-invasive bladder cancer. *BJU Int.* 2017;119(3):371–80. DOI: 10.1111/bju.13760.
  20. *Martin-Doyle W, Leow JJ, Orsola A, Chang SL, Bellmunt J.* Improving selection criteria for early cystectomy in high-grade t1 bladder cancer: A meta-analysis of 15,215 patients. *J Clin Oncol.* 2015;33(6):643–50. DOI: 10.1200/JCO.2014.57.6967.
  21. *Gontero P, Sylvester R, Pisano F, Joniau S, Vander Eeck K, Serretta V et al.* Prognostic factors and risk groups in T1G3 non-muscle-invasive bladder cancer patients initially treated with Bacillus Calmette-Guérin: Results of a retrospective multicenter study of 2451 patients. *Eur Urol.* 2015;67(1):74–82. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.06.040.
  22. *Miyake M, Matsuyama H, Teramukai S, Kinoshita F, Yokota I, Matsumoto H et al.* A new risk stratification model for intravesical recurrence, disease progression, and cancer-specific death in patients with non-muscle invasive bladder cancer: The J-NICE risk tables. *Int J Clin Oncol.* 2020;25(7):1364–76. DOI: 10.1007/s10147-020-01654-5.
  23. *Jancke G, Rosell J, Jahnsen S.* Impact of tumour size on recurrence and progression in Ta/T1 carcinoma of the urinary bladder. *Scand J Urol Nephrol.* 2011;45(6):388–92. DOI: 10.3109/00365599.2011.590995.
  24. *Kashif Khan M, Ahmed I, Raza SJ.* Factors effecting recurrence and progression of high grade non invasive bladder cancer treated by intravesical BCG. *Pak J Med Sci.* 2014;30(2):326–30. DOI: 10.12669/pjms.302.4117.
  25. *Su X, Fang D, Li X, Xiong G, Zhang L, Hao H et al.* The influence of tumor size on oncologic outcomes for patients with upper tract urothelial carcinoma after radical nephroureterectomy. *Biomed Res Int.* 2016;2016:4368943. DOI: 10.1155/2016/4368943.
  26. *Zachos I, Tzortzis V, Mitrakas L, Samarinas M, Karatzas A, Gravas S et al.* Tumor size and T stage correlate independently with recurrence and progression in high-risk non-muscle-invasive bladder cancer patients treated with adjuvant BCG. *Tumour Biol.* 2014;35(5):4185–9. DOI: 10.1007/s13277-013-1547-8.
  27. *Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Witjes JA, Bouffoux C, Denis L et al.* Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol.* 2006;49(3):466–77. DOI: 10.1016/j.eururo.2005.12.031.
  28. *Smits G, Schaafsma E, Kiemeneij L, Caris C, Debruyne F, Witjes JA.* Microstaging of pT1 transitional cell carcinoma of the bladder: identification of subgroups with distinct risks of progression. *Urology.* 1998;52(6):1009–13. DOI: 10.1016/s0090-4295(98)00374-4.
  29. *Bernardini S, Billerey C, Martin M, Adessi GL, Wallerand H, Bittard H.* The predictive value of muscularis mucosae invasion and p53 over expression on progression of stage T1 bladder carcinoma. *J Urol.* 2001;165(1):42–6. DOI: 10.1097/00005392-200101000-00011.
  30. *Gofrit ON, Pode D, Pizov G, Duvdevani M, Landau EH, Hidas G et al.* “Very-low-risk” bladder tumours – a new entity? *BJU Int.* 2018;121(4):627–31. DOI: 10.1111/bju.14108.
  31. *von Landenberg N, Aziz A, von Rundstedt FC, Dobruch J, Kluth LA, Necchi A et al.* Conditional analyses of recurrence and progression in patients with TaG1 non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol.* 2018;36(5):238.e19–238.e27. DOI: 10.1016/j.urolonc.2018.01.017.

**Информация об авторах**

Магомед Абдурогимович Гусниев – соискатель ученой степени кандидата медицинских наук в НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Валентина Викторовна Печникова – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Садык Абдурогимович Гусниев – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Михаил Юрьевич Гущин – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

Зарина Владиславовна Гиоева – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Ахмедхан Мухамедович Пшихачев – доктор медицинских наук, врач-уролог, старший научный сотрудник МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына.

**Author information**

Magomed A. Gusniev – External Doctoral Candidate, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.  
<https://orcid.org/0000-0001-9538-8869>

Valentina V. Pechnikova – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.  
<https://orcid.org/0000-0001-5896-4556>

Sadyk A. Gusniev – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.  
<https://orcid.org/0000-0002-5664-2964>

Mikhail Yu. Gushchin – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.  
<https://orcid.org/0000-0002-1041-8561>

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy.  
<https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Achmedkhan M. Pshikhachev – Dr. Sci. (Med.), Urologist, Senior Researcher, Medical Research and Educational Center of the Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0002-4424-3261>

Lyudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology.  
<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

© Волкова Л.В., Шушвал М.С., 2021

DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.47-54

УДК 616.33-006.6-091(470.26)

## Морфологическая характеристика диспластических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухоли, при раке желудка кишечного типа

Л.В. Волкова<sup>1</sup>, М.С. Шушвал<sup>2</sup><sup>1</sup> ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия<sup>2</sup> ГБУЗ Областная клиническая больница Калининградской области, Калининград, Россия

*Введение.* Диспластические процессы, механизмы канцерогенеза в желудке, несмотря на значительное число публикаций, наличие концепции, известной как каскад Коррея, далеки от окончательной ясности. Дисплазии и фоновые процессы в слизистой оболочке, прилежащей к опухолевому узлу, их значение, роль в феномене канцеризации поля также исследованы недостаточно. Цель работы – исследование частоты встречаемости и отдельных характеристик дисплазий высокой и низкой степени в слизистой оболочке желудка на разном расстоянии от опухолевого узла.

*Материалы и методы.* Проведено проспективное гистологическое исследование операционного материала 49 пациентов с карциномами желудка кишечного типа из опухолевого узла и прилегающей слизистой оболочки желудка на разном расстоянии от опухоли. Оценивали частоту встречаемости и отдельные характеристики дисплазий низкой и высокой степени.

*Результаты.* В слизистой оболочке, прилежащей к узлу карцином кишечного типа, в 73,5% случаев выявлены диспластические изменения низкой и высокой степени. Во всех наблюдениях на участках ткани, прилегающей к опухолевому узлу с диспластическими изменениями низкой и высокой степени, обнаружены фоновые и предраковые процессы.

*Заключение.* Частота встречаемости дисплазий низкой и высокой степени, выявленных в слизистой оболочке при карциномах кишечного типа, достоверно уменьшается при удалении от опухолевого узла. Диспластические изменения встречаются в ассоциации с гиперплазией эпителия, кишечной метаплазией, воспалительными и атрофическими изменениями. Полученные данные свидетельствуют в пользу феномена полей канцеризации, указывают на необходимость дальнейшего изучения морфологических, молекулярных и генетических изменений в слизистой оболочке желудка, прилегающей к опухоли. Наличие диспластических изменений в области линии резекции свидетельствует о важности учета данного факта при определении хирургической линии резекции.

**Ключевые слова:** рак желудка, low-grade дисплазия, high-grade дисплазия, дисплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительная инфильтрация, атрофия

**Для корреспонденции:** Лариса Владимировна Волкова. E-mail: volkova16@gmail.com

**Для цитирования:** Волкова Л.В., Шушвал М.С. Морфологическая характеристика диспластических процессов в слизистой оболочке, прилежащей к опухоли, при раке желудка кишечного типа. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):47–54. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.47-54.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 12.05.2021. Получена после рецензирования 28.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Morphological characteristics of dysplasia in the mucous membrane adjacent to the tumor in intestinal type gastric cancer

L.V. Volkova<sup>1</sup>, M.S. Shushval<sup>2</sup><sup>1</sup> Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia<sup>2</sup> Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia

*Introduction.* Despite a significant number of publications and a concept known as Correa's cascade, dysplastic processes and the mechanisms of gastric carcinogenesis, are still far from being completely understood. Dysplasia and the processes in the mucous membrane adjacent to the tumor node, their significance, and their role in the field cancerization have also been studied insufficiently. The aim of this work was to analyze the frequency of occurrence and some characteristics of high- and low-grade dysplasia in the gastric mucosa at variable distances from the tumor node.

*Materials and methods.* We carried out a prospective histological study of surgical specimens from 49 patients with intestinal type gastric adenocarcinoma. We studied tissues from the tumor node and adjacent gastric mucosa at various distances from the tumor and assessed the frequency of occurrence and some characteristics of low- and high-grade dysplasia.

*Results.* In the mucous membrane adjacent to the intestinal type adenocarcinoma, 73.5% of cases demonstrated low- and high-grade dysplasia. In all cases, background and precancerous processes were found in areas adjacent to the tumor node with low- and high-grade dysplasia.

*Conclusion.* The incidence of low- and high-grade dysplasia detected in the mucous membrane adjacent to intestinal type gastric adenocarcinoma significantly decreases as the distance from the tumor node increases. Dysplastic changes are associated with epithelial hyperplasia, intestinal metaplasia, and inflammatory and atrophic changes. The results obtained support field cancerization and highlight the need to study morphological, molecular, and genetic alterations in the gastric mucosa adjacent to the tumor more deeply. The dysplastic changes present at the resection line area indicate that this fact must be considered when determining the resection line.

**Keywords:** gastric cancer, low-grade dysplasia, high-grade dysplasia, epithelial dysplasia, intestinal metaplasia, inflammatory infiltration, atrophy

**Corresponding author:** Larisa V. Volkova. E-mail: volkova16@gmail.com

**For citation:** Volkova L.V., Shushval M.S. Morphological characteristics of dysplasia in the mucous membrane adjacent to the tumor in intestinal type gastric cancer. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):47–54. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.47-54 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 12.05.2021. **Received in revised form** 28.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

## Введение

Дисплазия в слизистой оболочке желудка (СОЖ) является важнейшим этапом канцерогенеза при формировании карцином кишечного типа [1–2]. Согласно WHO Classification of Tumours (5th ed., 2019), при прогрессировании предраковых изменений – хроническо-го атрофического гастрита, кишечной метаплазии – развиваются интраэпителиальные неопластические процессы, к которым относятся дисплазия низкой (low grade) и высокой (high grade) степени [2–4], их морфофункциональные характеристики и значение в желудочном канцерогенезе еще предстоит окончательно определить. В эпителии желудка выделяют два типа дисплазии – кишечного и фовеолярного (желудочного) типа. Более того, в настоящее время дисплазии желудка подразделяют на зубчатую дисплазию высокой степени и низкой степени, дисплазию желудочных ямок/крипт [3, 5]. Интраэпителиальные неопластические изменения, проблема трансформации дисплазии низкой степени в дисплазию высокой степени, взаимосвязи указанных процессов, вероятность их обратимости, взаимоотношений с предраковыми изменениями в слизистой желудка – метаплазией и гиперплазией в СОЖ до настоящего времени изучены недостаточно. Распространенность и биологические характеристики дисплазии ямочного эпителия исследованы неполно, при изучении прилежащей к опухоли слизистой оболочки желудка установлено, что в 21% карцином имела место дисплазия ямочного эпителия, сопровождавшаяся усилением экспрессии p53 и Ki-67 [6]. У некоторых пациентов с хроническим гастритом описана атипия, подобная дисплазии

(DLA), ограниченная ямочным эпителием без вовлечения поверхностного эпителиального слоя. DLA выявлена в 49% случаев в участках слизистой оболочки, прилегающей к дисплазии или карциноме, в фокусах с DLA показатели Ki-67 были выше, чем в участках кишечной метаплазии, по-видимому, DLA является предопухолевым поражением [7]. Далеко от окончательной ясности и феномен полей канцеризации, описанный D.P. Slaughter et al. (1953) для объяснения возникновения первично множественных опухолей, локальных рецидивов, аномалий ткани, окружающей карциномы, мультифокальной области предраковых изменений [8–9]. Суть феномена заключается в том, что в областях, окружающих опухоль, гистологически имеющих вид нормальной ткани, имеются генетические и/или эпигенетические изменения, предрасполагающие к развитию опухоли либо местного рецидива. Указанный феномен описан при различных типах рака, в ряде публикаций рассматривается как важный компонент канцерогенеза [8–19]. При исследовании полей канцеризации при карциномах желудка идентифицированы многочисленные молекулярные, генетические, эпигенетические и хромосомные нарушения [10, 20–24]. Таким образом, очевидно, что для понимания механизмов желудочного канцерогенеза необходимо дальнейшее изучение диспластических процессов как этапов интраэпителиальных неоплазий, предшествующих развитию карцином, а также дисплазий в слизистой оболочке, прилегающей к опухоли.

Цель исследования – изучение частоты встречаемости, выраженности и взаимосвязей диспластических процессов в слизистой оболочке желудка на разном

расстоянии от опухолевого узла при карциномах кишечного типа.

### Материалы и методы

Исследован операционный материал 49 пациентов после гастрэктомий и резекций желудка, проведенных в областной клинической больнице Калининградской области в 2017–2019 годах. Выборка для проспективного исследования включала 49 наблюдений (26 мужчин, 23 женщины в возрасте от 64 до 69,5 года) с карциномами желудка кишечного типа, всего 686 тканевых образцов. При вырезке определяли максимальные границы опухоли, слизистую оболочку желудка на расстоянии 1 см и 2 см маркировали, фиксировали на подложке в 10% забуференном растворе формалина в течение 24 часов, после чего вырезали фрагменты опухоли и СОЖ на разном удалении от опухолевого узла. Тканевые образцы получали из следующих областей: 1) опухолевый узел; 2) СОЖ на расстоянии 1 см от опухоли; 3) СОЖ на расстоянии 2 см от опухоли; 4) СОЖ в области проксимальной линии резекции; 5) СОЖ в области дистальной линии резекции. Проводку и заливку в парафин выполняли по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование препаратов и микрофотографирование выполняли с помощью микроскопов Leica DMLB и Leica DM 1000 (Leica, Германия), соответственно. Для полуколичественного морфометрического исследования использовали разработанный ранее алгоритм, учитывающий ряд параметров гисто- и цитоархитектоники, а также выраженность фоновых процессов – гиперплазии эпителия, кишечной метаплазии, воспалительной инфильтрации и атрофии с оценкой их в баллах от 0 до 3 [25]. Данные обрабатывали статистически с помощью программ IBM SPSS Statistics 23 и Microsoft Excel 2010: использовали критерии оценки нормальности распределения,

средних, ошибки среднего, t-критерий Стьюдента, критерий хи-квадрат по Пирсону, методы корреляционного анализа.

### Результаты и обсуждение

В исследованном материале диагностированы аденокарциномы – 43 случая и недифференцированный рак – шесть наблюдений. Подгруппа аденокарцином состояла из низкодифференцированных опухолей G3 – 20 (47,6%), карцином G2 – 18 (41,8%), высокодифференцированных опухолей G1 – пять (11,9%). У 20 пациентов (40,8%) диагностировали прорастание опухоли за серозную оболочку и метастазы в регионарные лимфатические узлы, преимущественно при карциномах G2 и G3.

В слизистой оболочке желудка на разном удалении от опухолевого узла (рис. 1), в области проксимальной и дистальной линии резекции выявлены дисплазии низкой и высокой степени в сочетании с такими патологическими процессами как гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия, воспалительные и атрофические изменения.

На участках ткани с дисплазией низкой степени (рис. 2 А и В) выявлены следующие нарушения гисто- и цитоархитектоники: увеличение числа желез, неравномерное распределение их в строме, очаговая скученность, железы разделены соединительнотканными прослойками, форма их иногда изменена, имеются признаки извитости; эпителий желез однорядный с округлыми и/или слегка вытянутыми ядрами с компактным хроматином, митотическая активность выражена слабо, определяется не более трех фигур митоза (рис. 2. А, В).

В фокусах с дисплазией высокой степени, выявленной на расстоянии 1–2 см от опухоли, обнаруживались более выраженные нарушения гисто- и цитоархитектоники по сравнению с дисплазией низкой степени

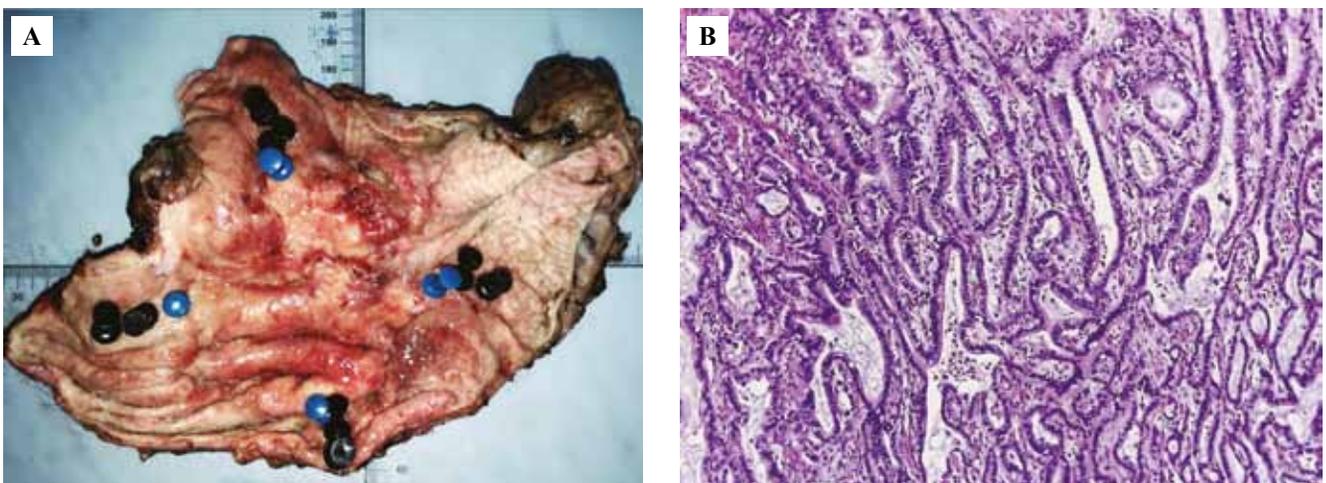


Рис. 1. Макро- (А) и микроскопические (В) изменения в СОЖ при аденокарциноме кишечного типа. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Fig. 1. Gross appearance (A) and microscopic (B) changes in the gastric mucosa in the intestinal type adenocarcinoma. H&E stain.  $\times 100$

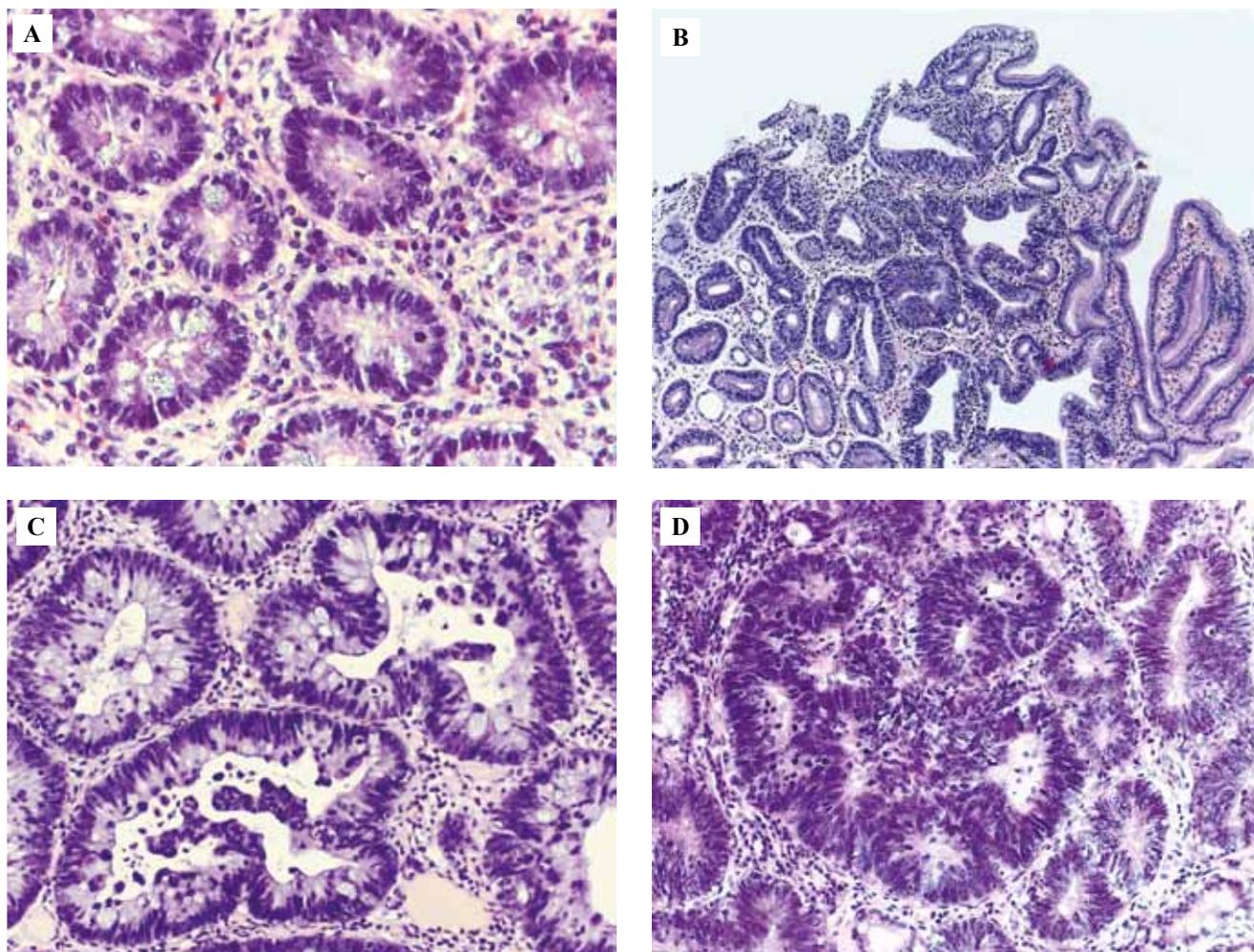


Рис. 2. Варианты диспластических изменений низкой (А, В) и высокой степени (С, D) в СОЖ при удалении от опухолевого узла. Окраска гематоксилином и эозином. А, С, D –  $\times 200$ , В –  $\times 40$

Fig. 2. Variants of dysplastic changes low-grade (A, B) and high-grade dysplasia (C, D) at a distance from the tumor node. H&E stain, A, C, D –  $\times 200$ , B –  $\times 40$

(рис. 2 С и D): изменения стратификации эпителия, соотношения стромы и числа желез, встречались железы разной величины и формы, расположенные хаотично, нередко «спинка к спинке», эффект «железа в железе», нередко имели место почкование, ветвление, пролиферация эпителия с формированием псевдопапиллярных структур, их удлинением и появлением зубчатости, кистозные изменения, формирование крибозных и крибриформных структур. Железы выстланы увеличенными столбчатыми клетками с минимальным количеством или отсутствием муцина, в псевдомногорядном эпителии – ядра округлой и овальной формы с дисперсным просветленным хроматином, расположенные на разных уровнях клетки, многие в апикальной части, обнаруживались выраженная клеточная и ядерная атипия, повышенная митотическая активность (3–5 фигур митоза и более).

При оценке распределения по возрасту подгрупп пациентов с дисплазией низкой и высокой степени выявлены два пика (рис. 3.) У пациентов с дисплазией

низкой степени первый пик приходился на 65–69 лет, второй – на период 75–79 лет, у пациентов с дисплазией высокой степени первый пик включал период 60–64 года, второй – 75–79 лет. Распределение числа наблюдений дисплазии низкой и высокой степени на разном удалении от опухолевого узла представлено на рисунке 4 и в таблице.

На участках слизистой оболочки желудка вне опухолевого узла на расстоянии 1 см и 2 см в 36 наблюдениях из 49 (73,5%) выявлены участки дисплазии низкой и высокой степени (рис. 4). Значительное количество диспластических изменений низкой (14 случаев) и высокой степени (15 наблюдений) обнаружено на расстоянии 1 см от опухолевого узла, всего 29 случаев дисплазий. При удалении от опухоли на 2 см в отдельных наблюдениях также были выявлены дисплазии низкой (три случая) и высокой степени (два случая), всего пять случаев дисплазий. В двух наблюдениях диспластические изменения низкой степени обнаружены в материале проксимальной линии резекции.

**Изменение частоты встречаемости дисплазии эпителия низкой и высокой степени в СОЖ на расстоянии от опухолевого узла | Changes in the incidence of gastric low- and high-grade dysplasia in the adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node**

Сравниваемые процессы: N1–N2   Compared processes: N1–N2	Число случаев N1   Number of N1 cases	Число случаев N2   Number of N2 cases	Коэффициент снижения N1–N2   N1–N2 reduction ratio	Уровень значимости   p-value
Дисплазия низкой степени: 1–2   Gastric dysplasia, low-grade: 1–2	14	3	5	0,005
Дисплазия низкой степени: 1–3   Gastric dysplasia, low-grade : 1–3	14	1	14	0,001
Дисплазия низкой степени: 1–4   Gastric dysplasia, low-grade: 1–4	14	1	14	0,001
Дисплазия низкой степени: 2–3   Gastric dysplasia, low-grade: 2–3	3	1	–	–
Дисплазия низкой степени: 2–4   Gastric dysplasia, low-grade: 2–4	3	1	–	–
Дисплазия высокой степени: 1–2   Gastric dysplasia, high-grade: 1–2	15	2	8	0,005
Дисплазия высокой степени: 1–3   Gastric dysplasia, high-grade : 1–3	15	0	15/0	0,001
Дисплазия высокой степени: 1–4   Gastric dysplasia, high-grade: 1–4	15	0	15/0	0,001
Дисплазия высокой степени: 2–3   Gastric dysplasia, high-grade: 2–3	2	0	–	–
Дисплазия высокой степени: 2–4   Gastric dysplasia, high-grade: 2–4	2	0	–	–

Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла: 1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции. Критерий хи-квадрат по Пирсону, N=49

Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor: 1 – 1 cm, 2 – 2 cm, 3 – proximal resection line, 4 – distal resection line. Pearson's chi-squared test, N = 49

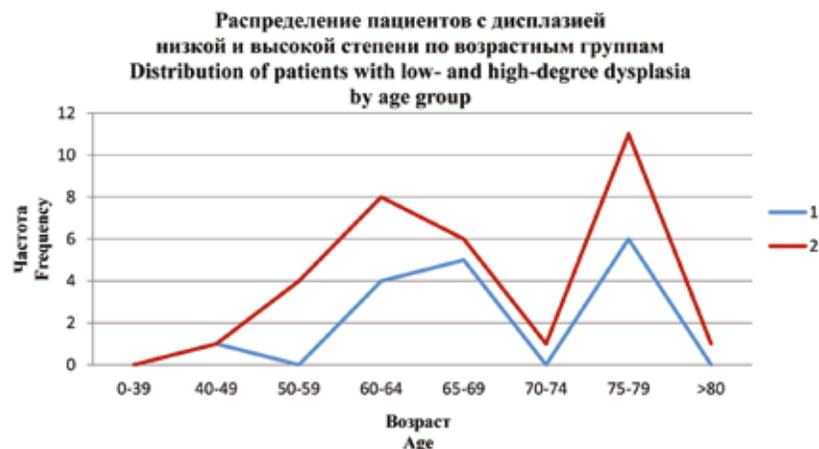


Рис. 3. Распределение по возрасту пациентов с дисплазией низкой и высокой степени в эпителии слизистой оболочки при удалении от опухолевого узла

Дисплазия низкой степени – 1, дисплазия высокой степени – 2

Fig. 3. Age distribution of the patients with low- and high-grade dysplasia in the mucosal epithelium at a distance from the tumor node

Low-grade gastric dysplasia – 1, high-grade gastric dysplasia – 2

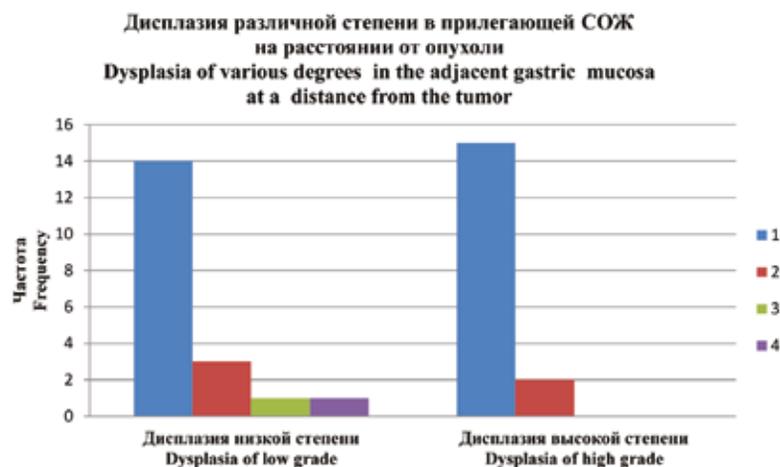


Рис. 4. Общее число наблюдений с дисплазией низкой и высокой степени, выявленной в СОЖ на расстоянии от опухоли.

Слизистая оболочка желудка на расстоянии от опухолевого узла: 1 – 1 см, 2 – 2 см, 3 – проксимальная линия резекции, 4 – дистальная линия резекции

Fig. 4. The total number of cases with gastric low- and high-grade dysplasia identified in the gastric mucosa at a distance from the tumor.

Adjacent gastric mucosa at a distance from the tumor node: 1 – at 1 cm, 2 – at 2 cm, 3 – at proximal resection line, 4 – at distal resection line

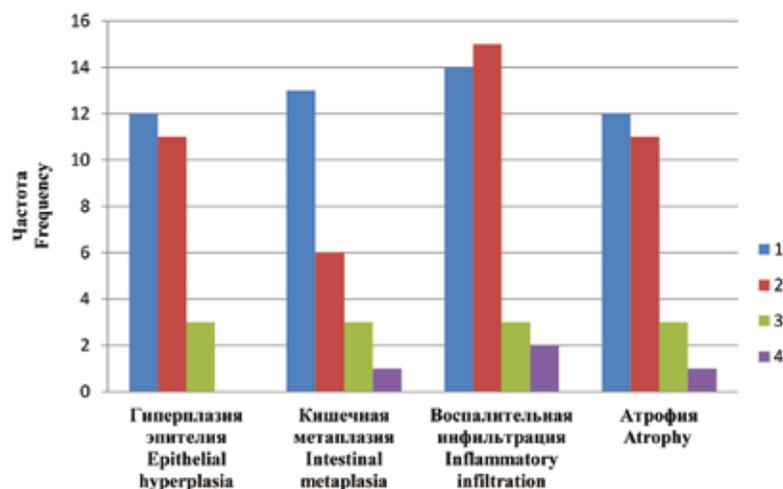


Рис. 5. Сочетание дисплазии низкой и высокой степени с фоновыми и предраковыми патологическими изменениями в слизистой оболочке желудка при удалении от опухолевого узла на 1 см и 2 см.

Дисплазия низкой степени (1 см) – 1, дисплазия высокой степени (1 см) – 2; дисплазия низкой степени (2 см) – 3, дисплазия высокой степени (2 см) – 4

Fig. 5. Association of low- and high-grade dysplasia with background and precancerous pathological alterations in the gastric mucosa at a 1- and 2-cm distance from the tumor.

Low-grade gastric dysplasia (1 cm) – 1; high-grade gastric dysplasia (1 cm) – 2; low-grade gastric dysplasia (2 cm) – 3; high-grade gastric dysplasia (2 cm) – 4

При удалении от опухолевого узла на расстоянии 2 см, а также в материале из линий резекций имело место достоверное уменьшение числа случаев дисплазий низкой и высокой степени, в 5 раз и более по сравнению с аналогичными показателями на расстоянии 1 см от опухоли (табл.).

Во всех указанных наблюдениях на участках ткани, прилегающей к опухолевому узлу, с диспластическими изменениями низкой и высокой степени (36 из 49) обнаружены фоновые и предраковые процессы – вос-

палительная инфильтрация, кишечная метаплазия, гиперплазия эпителия, атрофические изменения (рис. 5).

На расстоянии 1 см от опухолевого узла дисплазия низкой степени во всех 14 наблюдениях сочеталась с воспалительной инфильтрацией разной степени выраженности (со слабой 35,7%, с умеренной 21,4%, с сильной 42,9%), кишечной метаплазией (92,8%), гиперплазией эпителия (85,7%) и атрофией (85,7%). Диспластические изменения высокой степени во всех 15 случаях встречались в сочетании с воспалительным

инfiltrатом разной степени выраженности (со слабой 20%, с умеренной 46,6%, с сильной 33,4%), гиперплазией эпителия (73,3%), атрофией (73,3%), кишечной метаплазией (40%).

При удалении на 2 см от опухоли в слизистой оболочке желудка число случаев дисплазии низкой степени было значительно меньше (три наблюдения) по сравнению с участками ткани на расстоянии 1 см. Во всех указанных случаях обнаружена воспалительная инфильтрация разной степени выраженности (слабой – один случай, умеренной – один случай, сильной – один случай), гиперплазия эпителия, кишечная метаплазия и атрофия – в каждом из трех наблюдений. Дисплазия высокой степени (два случая) встречалась в сочетании с воспалительным инfiltrатом слабой и умеренной степени (по одному случаю), кишечной метаплазией и атрофией – по одному случаю.

Таким образом, диспластические изменения в СОЖ на расстоянии 1 см и 2 см в большинстве наблюдений ассоциированы с фоновыми и предраковыми изменениями – воспалительной инфильтрацией, кишечной метаплазией, гиперплазией эпителия и атрофией.

### Заключение

При исследовании морфологических изменений в слизистой оболочке желудка при удалении от узла карцином желудка кишечного типа в 73,5% случаев выявлены диспластические изменения низкой и высокой степени. Распределение по возрасту пациентов с дисплазией низкой и высокой степени характеризовалось наличием двух пиков, первый из которых приходился на периоды 65–69 лет и 60–64 года, а второй наблюдался в возрасте 75–79 лет. На участках слизистой оболочки желудка вне опухолевого узла на расстоянии 1 см и 2 см диспластические изменения диагностированы в 69,4% наблюдений. Количество выявленных дисплазий низкой и высокой степени достоверно снижалось на расстоянии 2 см от опухоли, более чем в 5 раз по сравнению с тканями на расстоянии 1 см, в области линий резекции диспластические изменения низкой степени были диагностированы в двух наблюдениях, что указывает на необходимость учета данного факта при определении хирургической линии резекции. Во всех указанных выше наблюдениях на участках ткани, прилегающей к опухолевому узлу на расстоянии 1 см и 2 см, с диспластическими изменениями низкой и высокой степени, обнаружены фоновые и предраковые процессы – воспалительная инфильтрация, кишечная метаплазия, гиперплазия эпителия и атрофические изменения. Полученные данные свидетельствуют в пользу феномена полей канцеризации, указывают на необходимость дальнейшего изучения морфологических, молекулярных и генетических изменений в слизистой оболочке желудка, прилегающей к опухоли, с целью углубления сведений о механизмах канцерогенеза при раке желудка кишечного типа. Наряду с этим важное практическое значение имеет исследование

патологических изменений в области линий резекции при различных вариантах оперативных вмешательств по поводу неопластических заболеваний желудка.

### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.В. Волкова.  
Сбор и обработка материала – М.С. Шушвал.  
Написание текста – Л.В. Волкова, М.С. Шушвал.  
Редактирование – Л.В. Волкова.

### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.V. Volkova.  
Collected the data and performed the analysis – M.S. Shushval.  
Wrote the paper – L.V. Volkova, M.S. Shushval.  
Edited the manuscript – L.V. Volkova.

### Литература/References

1. Kinoshita H, Hayakawa Y, Koike K. Metaplasia in the stomach – precursor of gastric cancer? *Int J Mol Sci.* 2017;18(10):2063. DOI: 10.3390/ijms18102063.
2. Михалева Л.М., Бирюков А.Е., Мидибер К.Ю. Современный подход к диагностике и лечению раннего рака желудка. *Новости клинической цитологии России.* 2019;23(3):5–14. DOI: 10.24411/1562-4943-2019-10301.  
Mikhaleva LM, Birukov AE, Midiber KYu. Modern view in early gastric cancer diagnostics and management. *Russian news of clinical cytology.* 2019;23(3):5–14 (In Russ.). DOI: 10.24411/1562-4943-2019-10301.
3. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020;76(2):182–8. DOI: 10.1111/his.13975.
4. Шушвал М.С., Волкова Л.В., Ныжник Л.М., Мусатов А.А. Предопухолевые и интраэпителиальные неопластические процессы при развитии карцином желудка. *Современные проблемы науки и образования.* 2019;4:147. DOI: 10.17513/spno.29086.  
Shushval MS, Volkova LV, Nyzhnik LM, Musatov AA. Intraepithelial precancerous and neoplastic processes in the development of carcinoma of the stomach. *Modern problems of science and education.* 2019;4:147 (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.29086.
5. Данилова Н.В., Олейникова Н.А., Мальков П.Г. Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание. *Архив патологии.* 2020;82(4):58–69. DOI: 10.17116/patol20208204158.  
Danilova NV, Oleynikova NA, Malkov PG. 2019 WHO classification of gastric epithelial tumors, 5th edition. *Archive of Pathology.* 2020;82(4):58–69 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20208204158.
6. Shin N, Jo HJ, Kim WK, Park WY, Lee JH, Shin DH et al. Gastric pit dysplasia in adjacent gastric mucosa in 414 gastric cancers: prevalence and characteristics. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(7):1021–9. DOI: 10.1097/PAS.0b013e31821ec495.
7. Agoston AT, Odze RD. Evidence that gastric pit dysplasia-like atypia is a neoplastic precursor lesion. *Hum Pathol.* 2014; 45(3):446–55. DOI: 10.1016/j.humpath.2013.10.032.
8. Pereira AL, Magalhães L, Moreira FC, Reis-das-Mercês L, Vidal AF, Ribeiro-Dos-Santos AM et al. Epigenetic field canceri-

- zation in gastric cancer: microRNAs as promising biomarkers. *J Cancer*. 2019;10(6):1560–9. DOI: 10.7150/jca.27457.
9. *Baba Y, Ishimoto T, Kurashige J, Iwatsuki M, Sakamoto Y, Yoshida N et al.* Epigenetic field cancerization in gastrointestinal cancers. *Cancer Lett*. 2016;375(2):360–6. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.03.009.
  10. *Fu DG.* Epigenetic alterations in gastric cancer (Review). *Mol Med Rep*. 2015;12(3):3223–30. DOI: 10.3892/mmr.2015.3816.
  11. *Babji DV, Kale AD, Hallikerimath SR, Kotrashetti VS.* Histomorphometric study to compare histological changes between oral squamous cell carcinoma and apparently normal adjacent oral mucosa. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;67(Suppl 1): 21–8. DOI 10.1007/s12070-014-0730-6.
  12. *Aran D, Camarda R, Odegaard J, Paik H, Oskotsky B, Krings G et al.* Comprehensive analysis of normal adjacent to tumor transcriptomes. *Nat Commun*. 2017;8(1):1077. DOI: 10.1038/s41467-017-01027-z.
  13. *Sanz-Pamplona R, Berenguer A, Cordero D, Mollevi DG, Crous-Bou M, Sole X et al.* Aberrant gene expression in mucosa adjacent to tumor reveals a molecular crosstalk in colon cancer. *Mol Cancer*. 2014;13:46. DOI: 10.1186/1476-4598-13-46.
  14. *Grassi A, Perilli L, Albertoni L, Tessarollo S, Mescoli C, Urso EDL et al.* A coordinate deregulation of microRNAs expressed in mucosa adjacent to tumor predicts relapse after resection in localized colon cancer. *Mol Cancer*. 2018;17(1):17. DOI 10.1186/s12943-018-0770-8.
  15. *Magi-Galluzzi C, Maddala T, Falzarano SM, Cherbavaz DB, Zhang N, Knezevic D et al.* Gene expression in normal-appearing tissue adjacent to prostate cancers are predictive of clinical outcome: Evidence for a biologically meaningful field effect. *Oncotarget*. 2016;7(23):33855–65. DOI: 10.18632/oncotarget.8944.
  16. *Dinges SS, Vandergrift LA, Wu S, Berker Y, Habbel P, Taupitz M et al.* Metabolomic prostate cancer fields in HRMAS MRS-profiled histologically benign tissue vary with cancer status and distance to cancer. *NMR Biomed*. 2019;32(10):e4038. DOI: 10.1002/nbm.4038.
  17. *Reed MAC, Singhal R, Ludwig C, Carrigan JB, Ward DJ, Taniere P et al.* Metabolomic evidence for a field effect in histologically normal and metaplastic tissues in patients with esophageal adenocarcinoma. *Neoplasia*. 2017;19(3):165–74. DOI: 10.1016/j.neo.2016.11.003.
  18. *Curtius K, Wright NA, Graham TA.* An evolutionary perspective on field cancerization. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(1):19–32. DOI: 10.1038/nrc.2017.102.
  19. *Li X, Gheinani AH, Adam RM.* A multi-omics approach to understanding the field effect in bladder cancer. *Transl Androl Urol*. 2019;8(6):775–8. DOI: 10.21037/tau.2019.07.11.
  20. *Valenzuela MA, Canales J, Corvalán AH, Quest AF.* Helicobacter pylori-induced inflammation and epigenetic changes during gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(45):12742–56. DOI: 10.3748/wjg.v21.i45.12742.
  21. *Oh JH, Rhyu MG, Kim SI, Yun MR, Shin JH, Hong SJ.* Gastric mucosal atrophy impedes housekeeping gene methylation in gastric cancer patients. *Cancer Res Treat*. 2019;51(1):267–79. DOI: 10.4143/crt.2018.085.
  22. *Wu R, Sun JY, Zhao LL, Fan ZN, Yang C.* Systematic identification of key functional modules and genes in gastric cancer. *Biomed Res Int*. 2020;2020:8853348. DOI: 10.1155/2020/8853348.
  23. *Pereira A, Moreira F, Vinasco-Sandova T, Cunha A, Vidal A, Ribeiro-dos-Santos AM et al.* miRNome reveals new insights into the molecular biology of field cancerization in gastric cancer. *Front Genet*. 2019;10:592. DOI: 10.3389/fgene.2019.00592.
  24. *Russi S, Calice G, Ruggieri V, Laurino S, La Rocca F, Amendola E et al.* Gastric normal adjacent mucosa versus healthy and cancer tissues: distinctive transcriptomic profiles and biological features. *Cancers (Basel)*. 2019;11(9):1248. DOI: 10.3390/cancers11091248.
  25. *Шушвал М.С., Волкова Л.В., Ныжжик Л.М., Мусатов А.А.* Исследование особенностей строения центральных и периферических отделов карцином желудка. Вестник новых медицинских технологий. 2020;4:11–15. DOI: 10.24411/2075-4094-2020-16660.
  - Shushval MS, Volkova LV, Nyzhnik LM, Musatov AA.* Study of peculiarities of structure of central and peripheral areas of stomach carcinomas. Journal of new medical technologies. 2020;4:11–15 (In Russ.). DOI: 0.24411/2075-4094-2020-16660.

### Информация об авторах

Лариса Владимировна Волкова – доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной медицины Медицинского института, заведующая лабораторией иммуногистохимической, патологоанатомической и клинической диагностики Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта.

Михаил Сергеевич Шушвал – врач-патологоанатом областной клинической больницы Калининградской области.

### Author information

Larisa V. Volkova – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Fundamental Medicine, Medical Institute, Head of the Laboratory of Immunohistochemical, Pathological and Clinical Diagnostics, Immanuel Kant Baltic Federal University. <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

Mikhail S. Shushval – Pathologist, Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region. <https://orcid.org/0000-0002-4479-1794>

## Структурные и ультраструктурные особенности раннего повреждения тканей кожи при местном лучевом воздействии в высокой дозе

*Р.В. Деев<sup>1,2</sup>, П.С. Еремин<sup>3</sup>, И.А. Чекмарева<sup>4</sup>, В.Г. Лебедев<sup>5</sup>, Ю.Б. Дешевой<sup>5</sup>, Т.А. Насонова<sup>5</sup>, Б.Б. Мороз<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

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

<sup>3</sup> ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России, Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского Минздрава России, Москва, Россия

<sup>5</sup> ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

**Введение.** Проблема исследования патоморфогенеза местных лучевых повреждений сохраняет актуальность в связи с развитием в широкой медицинской практике лучевых методов диагностики и терапии. **Материалы и методы.** Проведено изучение структурных и ультраструктурных особенностей воздействия на кожу ионизирующей радиации в высокой дозе (110 Гр, рентгеновское излучение) на ранних сроках повреждения – 3-и, 8-е и 14-е сутки. Исследование выполнено на крысах, которые получали однократное облучение кожи спины при помощи рентгеновского аппарата ЛНК-268 (РАП 100-10) (Россия). Морфологическое исследование включало световую микроскопию (окрашивание гематоксилином и эозином), исследование полутонких срезов (окрашивание толуидиновым синим) и трансмиссионную электронную микроскопию биоптатов.

**Результаты.** Выявлено, что уже на 3-и сутки вне зависимости от клинических проявлений в области воздействия лучевой энергии имеются формирующий субэпидермальный отек, межклеточный отек и нарушение контактов в эпителиальном пласте, повреждение митохондрий кератиноцитов и гистиоцитов дермы. Указанные признаки нарастают к 8-м и 14-м суткам, что приводит к гибели тканей как в эпицентре облучения, так и на периферии. На 8–14-е сутки отмечали повреждение эндотелиоцитов кровеносных сосудов, основным из которых является гибель митохондрий. Морфометрические данные свидетельствуют о нарастающем отеке эпидермиса вплоть до его десквамации к 14-м суткам и увеличении «общей клеточности» за счет различных форм лейкоцитов в сосочковом и сетчатом слоях дермы в указанный период наблюдений.

**Заключение.** Локальное облучение в дозе 110 Гр приводит к необратимым изменениям в изученных клетках, их некрозу в течение двух недель и к созданию таким образом предпосылок к язвообразованию в более поздний период.

**Ключевые слова:** лучевая язва, повреждение, кожа, клеточная гибель, ультраструктура

**Для корреспонденции:** Роман Вадимович Деев. E-mail: romdey@gmail.com

**Для цитирования:** Деев Р.В., Еремин П.С., Чекмарева И.А., Лебедев В.Г., Дешевой Ю.Б., Насонова Т.А., Мороз Б.Б. Структурные и ультраструктурные особенности раннего повреждения тканей кожи при местном лучевом воздействии в высокой дозе. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):55–64. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.3.55-64.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 15.12.2020. Получена после рецензирования 25.01.2021. Принята в печать 11.02.2021.

## Structural and ultrastructural features of early skin damage after local high-dose radiation exposure

*R. V. Deev<sup>1,2</sup>, P. S. Eremin<sup>3</sup>, I. A. Chekmareva<sup>4</sup>, V. G. Lebedev<sup>5</sup>, Yu. B. Deshevoy<sup>5</sup>, T. A. Nasonova<sup>5</sup>, B. B. Moroz<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Human Stem Cells Institute, Moscow, Russia

<sup>3</sup> National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russia

<sup>4</sup> A. V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russia

<sup>5</sup> A. I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

**Introduction.** Research on skin radiation injury remains topical due to the development of X-ray diagnosis and therapy in medical practice.

*Materials and methods.* We studied structural and ultrastructural features of high-dose ionizing radiation exposure to the skin (110 Gy, X-ray) at early stages of damage (days 3, 8, and 14). The study was conducted on Wistar rats (N=39) that were exposed to a single irradiation on the interscapular skin region with an LNK-268 (RAP 100-10) X-ray machine (Russia). To analyze the morphologic changes, light (hematoxylin and eosin stain and toluidine blue stain) and transmission electron microscopy were used.

*Results.* Regardless of clinical manifestations on day 3, subepidermal edema, intercellular edema and epithelial layer contact disruption, mitochondria damage to the keratinocytes, and dermal histiocytes developed in the area of radiation exposure. These signs intensified by days 8 and 14, leading to tissue death both at the central and peripheral parts of irradiation. On days 8-14, damage to the vascular endothelial cells became noticeable, the mitochondrial death being the major one. Morphometric data indicate an increase both in the epidermis edema up to its desquamation by day 14 and in total cellularity due to various forms of leukocytes in the papillary and reticular dermis.

*Conclusion.* Local 110-Gy irradiation leads to irreversible changes in the cells and their necrosis within two weeks that may result in ulcer formation later in life.

**Keywords:** radiation ulcer, damage, skin, cell death, ultrastructure

**Corresponding author:** Roman V. Deev. E-mail: romdey@gmail.com

**For citation:** Deev R.V., Eremin P.S., Chekmareva I.A., Lebedev V.G., Deshevoy Yu.B., Nasonova T.A., Moroz B.B. Structural and ultrastructural features of early skin damage after local high-dose radiation exposure. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):55-64. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.55-64 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 15.12.2020. **Received in revised form** 25.01.2021. **Accepted** 11.02.2021.

## Введение

Проблеме реактивности, особенностям гибели и восстановления покровных тканей млекопитающих и человека под воздействием различных видов ионизирующих излучений (ИИ) посвящен целый пласт литературы [1-4]. Вместе с тем нельзя не отметить, что в последние десятилетия был выдвинут ряд научно-теоретических обобщений, позволяющих детализировать клеточные и тканевые закономерности повреждения и восстановления, такие как учения о раневом процессе, о гистогенезе и клеточно-дифференной организации [5, 6].

Несмотря на существующую систему профилактики поражения человека ионизирующими излучениями в мирное время, ежегодно на лечение в профильные специализированные медицинские учреждения поступает много пациентов [4, 7]. Существенную долю среди всех облученных составляют имеющие местные лучевые поражения (МЛП) как ятрогенного, так и неятрогенного генеза. Высказано обоснованное мнение, что хуже всего изучены самые тяжелые формы МЛП – лучевые некрозы [3]. Разработка и внедрение новых, в том числе биотехнологических, методов лечения МЛП нуждаются в современной качественной модели, а также надлежащей морфологической характеристике ранних и поздних процессов, развивающихся в коже в связи с локальным облучением в высокой дозе [7].

Цель исследования – структурная и ультраструктурная характеристика тканей кожи у лабораторных животных (крыс) в ранние сроки (3-и, 8-е, 14-е сутки) после моделирования МЛП в дозе, вызывающей формирование хронических лучевых язв (110 Гр).

## Материалы и методы

### *Моделирование местного лучевого поражения*

Воспроизведение длительно незаживающего лучевого дефекта покровов осуществляли у лабораторных животных (крыс) по ранее описанной методике [7]. В эксперимент включали самцов породы Вистар массой 180-200 граммов (общее число животных – 39). При помощи рентгеновского аппарата ЛНК-268 (РАП 100-10) (Россия) воспроизводили модель тяжелых незаживающих МЛП кожи спины. Дозиметрические характеристики исследовали посредством тканеэквивалентного фантома, состоящего из тонких термолюминесцентных детекторов ТТЛД-580 и прокладок из фторопласта общей толщиной 30 мм, помещенных в плексигласовый цилиндр. Животных облучали в течение 380 секунд до достижения дозы на поверхности кожи 110 Гр (мощность дозы 17,5 Гр/мин.).

При работе неукоснительно соблюдали положения Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [8]. Эксперимент одобрен этическим комитетом ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (протокол № 1 от 20 июня 2012 года).

### *Взятие материала и его фиксация*

После выведения животных из эксперимента (передозировка эфирного наркоза) получали лоскуты кожи в пределах области облучения общей площадью 3×3 см с захватом фасции. Полученный лоскут фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина.

Для трансмиссионной электронной микроскопии вырезали участки кожи размером 1,5×1,5 мм, включающие эпидермис и дерму. При этом кусочки брали

как из центральной части зоны облучения, так и из периферической. Материал немедленно фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида и в тот же день доставляли в лабораторию для последующей обработки.

#### *Гистологические исследования*

Стандартная гистологическая обработка включала проводку, изготовление парафиновых блоков, гистологических срезов толщиной 5–7 мкм, окрашивание гематоксилином и эозином. Препараты изучали в световом микроскопе Leica DM1000 (Германия). Оценивали ряд морфометрических параметров – среднюю толщину эпидермиса, среднюю толщину дермы, среднюю толщину кожной мышцы, среднее количество кератиноцитов в вертикальной колонке эпидермиса, общую клеточность в сосочковом слое дермы, общую клеточность в сетчатом слое дермы. Общую клеточность считали отдельно в центральных и периферических участках тканевого образца, а также отдельно в субэпидермальной части. Под клеточностью понимали среднее количество ядродержащих клеток в поле зрения при иммерсионном увеличении ( $\times 1000$ ). Подсчеты проводили не менее чем в 12 полях зрения.

#### *Электронномикроскопические исследования*

После доставки в лабораторию материал дофиксировали четырехокисью осмия и подвергали стандартной пробоподготовке с заливкой в аралдитовую смолу. Полутонкие срезы толщиной 1,5–2 мкм окрашивали толудиновым синим. Ультратонкие срезы толщиной 100–200 нм получали на ультрамикротоме фирмы LKB (Швеция), срезы контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца. Ультраструктурное изучение препаратов проводили при помощи электронного микроскопа JEM 100-CX (JEOL, Япония) в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 кВ.

#### **Результаты**

Феноменология изменений, происходящих в тканях после местного облучения в дозе 110 Гр, включает последовательную смену событий повреждения клеток, межклеточного вещества и сосудов; гибель необратимо поврежденных элементов, транзиторные реактивные изменения обратимо поврежденных клеток. На более поздних сроках за этим следуют процессы восстановления.

#### *3 суток после повреждения*

**Эпидермис.** В центральной части эпителиальный пласт выглядит поврежденным даже на световом уровне. Детектируются признаки субэпидермального отека – под базальной мембраной сформированы неправильной формы полости с трансудатом и единичными блуждающими клеточными элементами типа гистиоцитов. Базальная мембрана частично разрушена. Под ней – фрагментированные разнонаправленные

пучки коллагеновых волокон. Базальные кератиноциты в основном имели крупные округлые ядра с гомогенной или мелкозернистой нуклеоплазмой низкой электронной плотности (рис. 1). В некоторых случаях ядро окружено электронносветлым перинуклеарным пояском; цитоплазма вакуолизирована. В кератиноцитах вышележащих слоев существенные признаки повреждения не выявлены.

При исследовании ультраструктуры кератиноцитов установлено, что обнаруживаемый перинуклеарный поясок обусловлен расширением перинуклеарного пространства и тотальным повреждением митохондрий, то есть видимые на светооптическом уровне вакуоли являются митохондриями с полностью разрушенной, фрагментированной или лизированной внутренней мембраной и кристами. В большинстве случаев также повреждена и наружная мембрана органоида. Указанные находки характерны не только для клеток базального слоя – они встречаются и в вышележащих слоях (рис. 1).

На расстоянии 1,2–1,5 см от центра зоны облучения в целом происходят похожие события, однако с меньшей степенью выраженности. Для этих участков характерно мозаичное повреждение кератиноцитов с тенденцией к затуханию в центробежном направлении. На светооптическом уровне они проявляются появлением оптически пустых вакуолей вокруг ядер и некоторым расширением пространств между контактами клеток шиповатого слоя.

**Дерма.** При изучении в световом микроскопе выраженные структурные изменения со стороны межклеточного вещества дермы, в частности волокна центральной части, не выявлены. Следует констатировать большую лабильность показателя общей клеточности в сосочковом слое, что объясняется конституционально высоким количеством кровеносных сосудов в этой области. Различия выявлены для количества клеток в центральном и периферических участках сосочкового слоя. Клеточный состав относительно брадитрофного сетчатого слоя остается практически неизменным в количественном выражении (табл.).

Определено, что средняя толщина дермы в центральном участке больше, чем на периферии, что объясняется выраженностью отека в данном участке.

При исследовании ультраструктуры клеток фибробластического ряда зарегистрированы в основном обратимые изменения органелл. Одновременно с этим наблюдали полное или частичное разрушение энергообеспечивающих органелл. Изменения включали весь диапазон – от просветления матрикса и фрагментации крист митохондрий до множественных разрывов наружной мембраны.

На периферии пораженного участка кожи грубые повреждения волокнистой основы дермы в большинстве участков также не выявлены.

**Кожная мышца.** Через 3 дня после облучения существенные изменения в структуре мышечной ткани

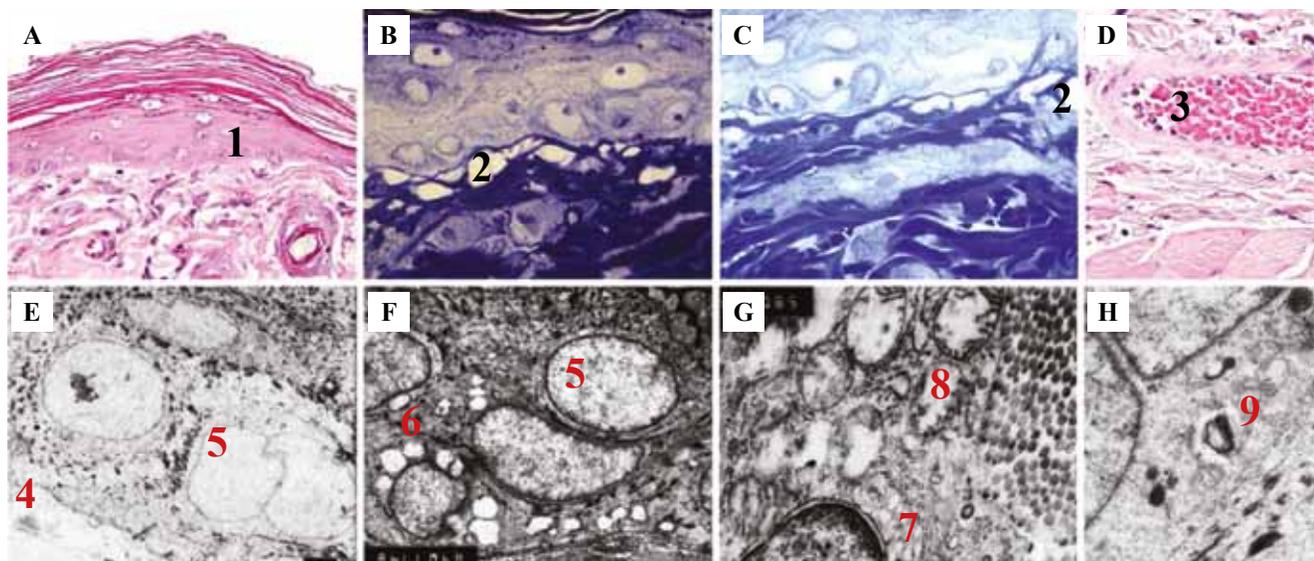


Рис. 1. Кожа экспериментальных животных через 3 суток после однократного облучения.

А–С – эпидермис и поверхностный слой дермы, D – кровеносный сосуд в дерме с активированным эндотелием и краевым стоянием лейкоцитов, E–G – ультраструктура кератиноцитов базального слоя эпидермиса (F – фрагмент рис. 1 E), H – ультраструктура фибробласта дермы. 1 – просветление ядер и фрагментация гетерохроматина в базальных кератиноцитах; 2 – субэпидермальный (вакуолизация) отек; 3 – активация эндотелиоцитов, мобилизация лейкоцитов; 4 – отежная базальная мембрана; 5 – тотальное просветление ядер базальных кератиноцитов и появление в них глубоких инцизур; 6 – перинуклеарное накопление митохондрий с разрушенными кристами и просветленным матриксом; 7 – расширение перинуклеарного пространства фибробласта; 8 – митохондрии с разрушенными кристами, растворенной внутренней мембраной и частично просветленным матриксом; 9 – миелиноподобная структура в цитоплазме кератиноцита. А, D – световая микроскопия, B, C – полутонкие срезы, E–H – трансмиссионная электронная микроскопия. Окрашивание: А, D – гематоксилин и эозин, B, C – толуидиновый синий. А, D  $\times 250$ , B, C  $\times 800$ , E  $\times 5900$ , F  $\times 8900$ , G  $\times 23\ 000$ , H  $\times 24\ 000$

Fig. 1. Skin tissue on day 3 after a single exposure irradiation.

A–C – epidermis and superficial dermis, D – blood vessel in the dermis with activated endothelium and leukocyte margination, E–G – ultrastructure of the epidermis basal layer keratinocyte (F – fragment of Fig. 1 E), H – dermal fibroblast ultrastructure. 1 – nuclei clearing and heterochromatin fragmentation in basal keratinocytes; 2 – subepidermal edema (vacuolization); 3 – endothelial cell activation, leukocyte mobilization; 4 – edematous basement membrane; 5 – total clearing of the basal keratinocyte nuclei and the deep incisures in them; 6 – perinuclear accumulation of mitochondria with destroyed cristae and a cleared matrix; 7 – expansion of the fibroblast perinuclear space; 8 – mitochondria with destroyed cristae, a dissolved inner membrane, and a partially cleared matrix; 9 – myelin-like structure in the keratinocyte cytoplasm. A, D – light microscopy, B, C – semifine sections, E–H – transmission electron microscopy (TEM). A, D – H&E stain, B, C – toluidine blue stain. A, D  $\times 250$ , B, C  $\times 800$ , E  $\times 5900$ , F  $\times 8900$ , G  $\times 23\ 000$ , H  $\times 24\ 000$

в проекции центрального участка фрагмента кожи не выявлены. Признаки отека, дисконфлексии мышечных волокон не обнаружены. Тинкториальные свойства не изменены.

Обращает внимание состояние мелких кровеносных сосудов в составе мышцы – в основном в них обнаружен сладж эритроцитов. На полутонких срезах и срезах с парафиновых блоков следует констатировать явление плазмаконцентрации (гиалиновые тромбы). Однако эритроцитарные или фибриновые тромбы не формируются, что на данном сроке позволяет говорить преимущественно о функциональном нарушении микроциркуляции в кожной мышце. Периферические участки препаратов также включают интактную, по данным световой микроскопии, мышцу.

*Подкожная жировая клетчатка и кровеносные сосуды.* Заметным изменением явилось излитие капель

жира за пределы адипоцитов в центральном участке поврежденной кожи. Жировые капли внутри клеток существенно уменьшены в размерах, часто составляя около 10–25% от предсуществовавшего объема. Нередки адипоциты, полностью лишенные жира. В некоторых полях зрения имеются свободные капли жира в межклеточном пространстве.

На ультратонких срезах можно различить эндотелиоциты со светлой и темной цитоплазмой. Наряду с этим обнаруживаются участки с десквамированными эндотелиоцитами и оголенным субэндотелиальным слоем; признаками плазмаконцентрации. Гетероморфные изменения эндотелиоцитов отчетливо выявляются в центральных участках местного лучевого поражения. Несмотря на то, что через 3 суток после воздействия явные признаки гибели эндотелия, его десквамации и следующих за этим тромбозов не отме-

Таблица | Table

**Морфометрическая характеристика кожи животных после местного лучевого поражения в дозе 110 Гр |  
Morphometric characteristics of animal skin after 110-Gy local radiation exposure**

Параметр   Indicator	3-и сутки   Day 3		8-е сутки   Day 8		14-е сутки   Day 14	
	центральная часть   central part	периферическая часть   peripheral part	центральная часть   central part	периферическая часть   peripheral part	центральная часть   central part	периферическая часть   peripheral part
Средняя толщина эпидермиса, мкм   Mean epidermis thickness, $\mu\text{m}$	32,3 $\pm$ 0,7	32 $\pm$ 5	33,8 $\pm$ 11,5	23,7 $\pm$ 3,7	–	32,7 $\pm$ 3
Средняя толщина дермы, мкм   Mean dermis thickness, $\mu\text{m}$	1140 $\pm$ 82,4	739 $\pm$ 101	1067 $\pm$ 138	795 $\pm$ 38	1488 $\pm$ 211	1323 $\pm$ 100
Средняя толщина кожной мышцы, мкм   Mean cutaneous muscle thickness, $\mu\text{m}$	320 $\pm$ 54,7	272,5 $\pm$ 47	238,4 $\pm$ 25	197 $\pm$ 31	–	240 $\pm$ 36,2
Общая клеточность в сосочковом слое (клеток в поле зрения)   Total cellularity of papillary dermis (cells per field of view)	25,6 $\pm$ 13	17,3 $\pm$ 5,5	30,6 $\pm$ 11,6	21,9 $\pm$ 8,8	–	24 $\pm$ 9,4
Общая клеточность в сетчатом слое (клеток в поле зрения)   Total cellularity of reticular dermis (cells per field of view)	14,4 $\pm$ 6	13,4 $\pm$ 6,2	14,5 $\pm$ 6	13,3 $\pm$ 4,8	24 $\pm$ 5,4	26 $\pm$ 6,8

чены, выраженные реактивные изменения приводят к сладжу эритроцитов и нарушению микроциркуляции в коже.

На периферии выявлены периваскулярные отеки. Эндотелиоциты выступают в просвет сосуда, мембрана люминальной поверхности с неровным рельефом, множеством отростков, которые увеличивают свободную поверхность клеток, а при соединении цитоплазматических отростков и формировании везикул усиливается трансэндотелиальный транспорт.

На полутонких срезах следует констатировать большое (больше обычного) содержание гранулярных лейкоцитов и макрофагов с реактивно измененными ядрами; часто они находятся в непосредственном контакте с сосудистой стенкой – адгезированы к эндотелию.

#### 8 суток после повреждения

Через 8 суток в эпицентре облучения детектируются признаки гибели тканей кожи. Преимущественными процессами становятся десквамация эпителия, лейкоцитарная инфильтрация погибших и погибающих

тканей, а также миграция блуждающих клеточных элементов стромально-мезенхимального генеза; разрушение коллагенового остова дермы.

*Эпидермис.* Макроскопически зона повреждения гиперемирована, местами покрыта полупрозрачными корками. Субэпидермальна трансудация приводит к отслаиванию больших по площади эпителиальных лоскутов. Обращает на себя внимание то, что субэпидермальные полости с прозрачным содержимым сливаются в обширные цистерны, роль крышек которых выполняет погибший и частично отслоившийся эпидермис. В цистернах обнаружены разнообразные клеточные элементы, включая гистиоциты.

Эпидермис с признаками дисконфлексии кератиноцитов. Вокруг ядер – просветленный пояс, включавший в основном погибшие митохондрии. В некоторых клетках – жировые капли. В качестве редких находок обнаружена вакуолизация ядер (рис. 2).

На периферии существенные различия по сравнению с центральными участками выявить не удалось. К данному сроку наблюдения проявляется мозаичность

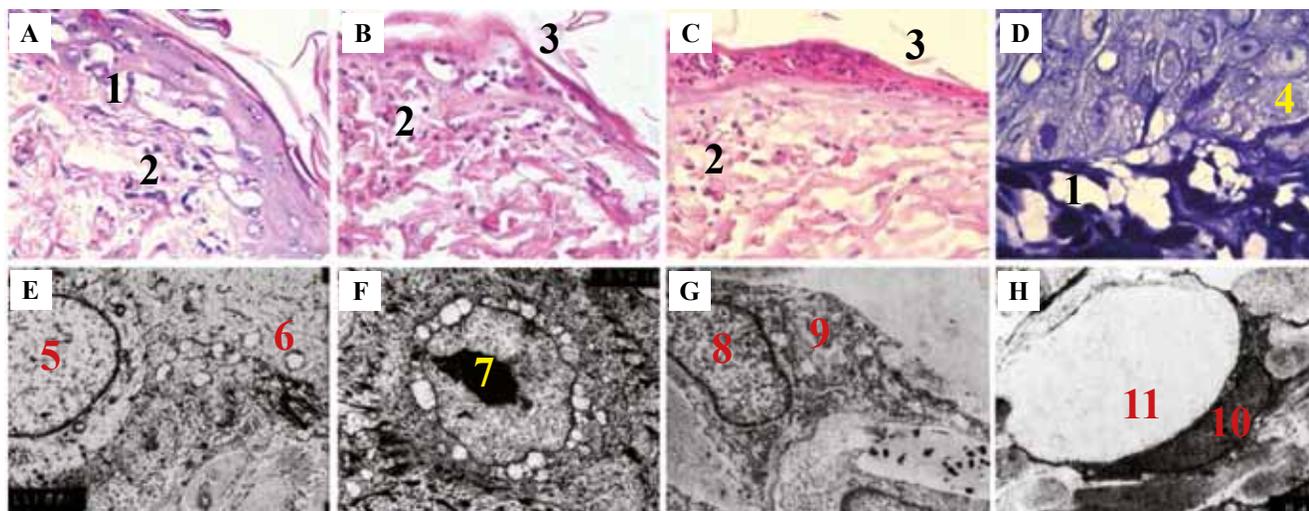


Рис. 2. Кожа экспериментальных животных через 8 суток после однократного облучения.

А–D – эпидермис и поверхностный слой дермы, E, F – ультраструктура кератиноцитов базального слоя эпидермиса, G, H – ультраструктура фибробластов дермы. 1 – субэпидермальные вакуоли (отек); 2 – лейкоцитарная инфильтрация сосочкового слоя дермы; 3 – формирование струпа на месте погибшего эпидермиса; 4 – субтотальная вакуолизация кератиноцитов; 5 – просветление ядра базального кератиноцита; 6 – митохондрии с разрушенными кристами, растворенной внутренней мембраной и просветленным матриксом; 7 – электронноплотное ядрышко; 8 – гомогенизация хроматина фибробласта дермы; 9 – фрагментация мембранных ультраструктур; 10 – уплощенное, сдавленное ядро фибробласта; 11 – крупная вакуоль. А–С – световая микроскопия, D – полутонкий срез, E–H – трансмиссионная электронная микроскопия. Окрашивание: А–С – гематоксилин и эозин, D – толуидиновый синий. А–С  $\times 250$ , D  $\times 1000$ , E  $\times 12\,000$ , F  $\times 8900$ , G  $\times 12\,000$ , H  $\times 8900$

Fig. 2. Skin tissue on day 8 after single exposure irradiation.

A–D – epidermis and superficial dermis, E, F – ultrastructure of the basal epidermis layer keratinocyte, G, H – dermal fibroblast ultrastructure. 1 – subepidermal vacuoles (edema); 2 – leukocyte infiltration in the papillary dermis; 3 – scab formation at the dead epidermis site; 4 – subtotal vacuolization of keratinocytes; 5 – basal keratinocyte nuclei clearing; 6 – mitochondria with destroyed cristae, dissolved inner membrane, and a cleared matrix; 7 – electron-dense nucleolus; 8 – chromatin homogenization in a dermal fibroblast; 9 – membrane ultrastructure fragmentation; 10 – flattened, compressed fibroblast nucleus; 11 – large vacuole. A–C – light microscopy, D – semi-fine sections, E–H – TEM. A–C – H&E stain, D – toluidine blue stain. A–C  $\times 250$ , D  $\times 1000$ , E  $\times 12\,000$ , F  $\times 8900$ , G  $\times 12\,000$ ; H  $\times 8900$

повреждений, которые в ряде случаев по выраженности деструкции не уступают эпицентру.

**Дерма.** На светооптическом уровне при сравнении с дермой на предыдущем сроке после повреждения отмечаются фрагментация коллагеновых волокон, отек и полиморфноядерная лейкоцитарная инфильтрация. Морфометрически через 8 суток была выявлена лишь та же тенденция, что и через 3 суток: утолщение дермы в центральных участках по сравнению с периферией, что, вероятно, является следствием более выраженного отека.

Необычной находкой стали «перстневидные клетки» в дерме. При электронной микроскопии они выглядят как одиночные округлые или полигональные клетки, чье серповидно деформированное ядро с электронноплотным мелкодисперсным хроматином оттеснено к одному из полюсов. В ободке цитоплазмы в некоторых случаях можно обнаружить поврежденные митохондрии. Большой объем клетки занят вакуолью, заполненной электроннопрозрачным содержимым (рис. 2).

**Кожная мышца, подкожная жировая клетчатка и кровеносные сосуды.** Признаки повреждения про-

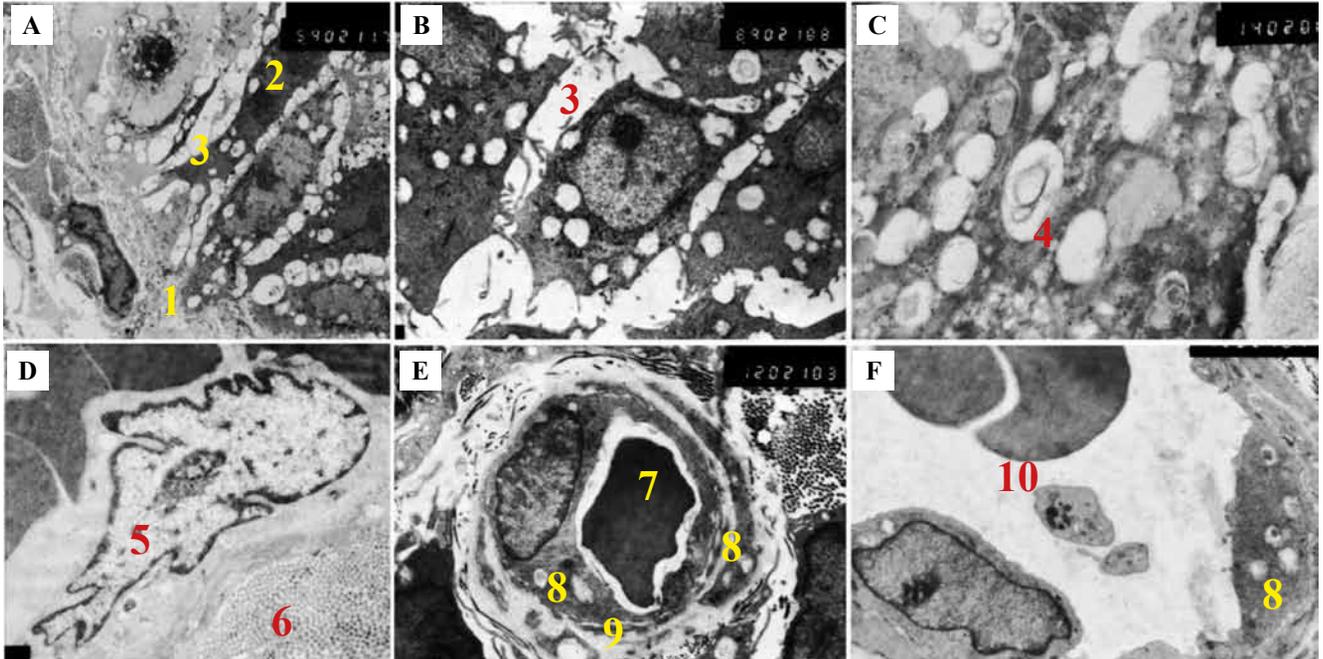
являются отеком, разобщающим мышечные волокна. Обнаруживаются локальные коагуляционные некрозы по ходу миофибрилл. При этом поперечная исчерченность сохранена.

В подкожной жировой клетчатке сохраняется выраженный отек. В остальном описанные ранее признаки повреждения адипоцитов сохранены. Отмечена имбиция свободным жиром тканей дермы и кожной мышцы.

Кровеносные сосуды, как правило, расширены, без признаков тромбоза или сладжа, характерно полнокровие. В просветах сосудов часто обнаруживается рыхлая сеть фибрина, большое количество полиморфноядерных лейкоцитов. Сосудистая стенка разволокнена, ее слои разобщены отеком. Эндотелиоциты, как правило, в обычном состоянии, без ярких признаков реактивных изменений, межклеточные контакты сохранены.

#### 14 суток после повреждения

Толщина центральной и периферической части дермы на 14-е сутки после облучения значительно увеличена –  $1488 \pm 211$  и  $1323 \pm 100$  мкм, соответственно, по сравнению с предыдущим сроком исследования



**Рис. 3.** Кожа экспериментальных животных через 14 суток после однократного облучения. А, В – кератиноциты, С – фрагмент цитоплазмы фибробласта дермы, D–F – эндотелий и периваскулярные структуры. 1 – отек базальной мембраны; 2 – деформированные вакуолизированные кератиноциты; 3 – расширение межклеточных контактов; 4 – внутрицитоплазматические вакуоли и миелиноподобные структуры в фибробласте дермы; 5 – эндотелиоцит с реактивно измененным ядром; 6 – коллагеновые волокна в дерме; 7 – эритроцит в просвете капилляра; 8 – вакуоли в цитоплазме эндотелиоцита и перicyта; 9 – отек периваскулярного пространства; 10 – эритроциты и тромбоциты в просвете сосуда. Электроннограммы: А ×5900, В ×8900, С ×9000, D ×8000, E ×9000

**Fig. 3.** Skin tissue on day 14 after single exposure irradiation.

A, B – keratinocytes, C – cytoplasm fragment of the dermal fibroblast, D–F – endothelium and perivascular structures. 1 – basement membrane edema; 2 – deformed vacuolated keratinocytes; 3 – intercellular contact expansion; 4 – intracytoplasmic vacuoles and myelin-like structures in the dermal fibroblast; 5 – reactively altered nucleus in an endotheliocyte; 6 – dermal collagen fibers; 7 – erythrocyte in the capillary lumen; 8 – cytoplasmic vacuoles in the endothelial cells and pericytes; 9 – perivascular space edema; 10 – erythrocytes and platelets in the vessel. TEM. A ×5900, B ×8900, C ×9000, D ×8000, E ×9000

(1067±138 и 795±38 мкм, соответственно). Эпителий некротизируется уже к середине второй недели после облучения. Дерма кожи погибает позже, не сразу на всю глубину зоны острого лучевого некроза. Гибель ее происходит поэтапно, с образованием нескольких лейкоцитарных валов. Окончательная величина зоны некроза определяется к концу третьей недели после облучения. Ультраструктурные изменения включают признаки необратимого повреждения (рис. 3).

### Обсуждение

Ранее было установлено, что местное лучевое поражение в форме острого лучевого некроза кожи имеет типичную стадийность: период первичных реакций; латентный период (5–7 суток); период экссудации и выраженных клинических проявлений, сменяющийся регенерацией [1]. В то же время с точки зрения тканевой реакции принято разделять патоморфогенез МЛП на две фазы – деструктивную, в которой превалируют дистрофические и некротические процессы, и фазу регенерации, которая в некоторых случаях может завершиться репарацией повреждения, но часто характеризуется не-

завершенностью с формированием хронической лучевой язвы [1]. Больше того, и в той, и в другой фазе явления деструкции выявляются параллельно с признаками репарации, и лишь общее направление течения патологического процесса позволяет рассматривать эти фазы отдельно.

Процессы повреждения, реактивных изменений, гибели, регенерации в области местного лучевого поражения протекают гетерохронно, в зависимости от радиочувствительности различных клеток, входящих в покровы и собирательное понятие «мягкие ткани», а также от удаленности от эпицентра лучевого воздействия. Кроме этого, степень повреждения ткани и (или) органа зависит от дозы лучевого воздействия [1, 4]. Чем в большей степени суммарная поглощенная доза излучения превышает толерантность облучаемых тканей, тем чаще и сильнее будут проявляться местные лучевые повреждения. В проведенном эксперименте доза на поверхности кожи 110 Гр (мощность дозы 17,5 Гр/мин) в 2 раза превосходила толерантную дозу (50–65 Гр), чего стало достаточно для развития раннего и позднего лучевого повреждения в виде хронической лучевой язвы.

Принято считать, что к концу первой недели область МЛП может быть разделена на две зоны – зону лучевого некроза и находившуюся дистальнее от источника облучения зону реактивных изменений [1]. По нашим данным, процесс формирования и демаркации указанных зон занимает гораздо большее время, и даже за весь период наблюдений раннего периода – 14 дней – он еще не завершен. Больше того, установлено формирование вторичных некрозов в МЛП, чей генез связан с повреждением микрососудов регенерирующих тканей, усиливающегося при посредстве хронического воспаления и иммунологических механизмов [1, 9].

Патоморфогенез МЛП следует рассматривать с учетом вовлечения в патологический процесс двух мишеней: 1) радиационное поражение стволовых и пролиферирующих клеток эпидермиса; 2) повреждение эндотелия сосудов, фибробластов и соединительнотканного матрикса [10].

В выполненном исследовании установлены ранние структурные и ультраструктурные признаки повреждения базальных кератиноцитов, включающие как прямой некроз, так и гибель митохондрий, ведущую за собой нарастание внутриклеточного отека и явления так называемой зернистой и баллонной дистрофии. Кроме этого, отслаивание эпителиального пласта субэпидермальным транссудатом приводит к полному разобщению покровной ткани от приносящих кровеносных сосудов. Важно, что на ультраструктурном уровне указанные изменения детектируются уже на 3-и сутки, в то время как ранее они были описаны при использовании световой микроскопии на более поздних сроках [1]. Таким образом, в момент клинического проявления МЛП в виде эритемы и в латентный период в эпителии уже развернуты необратимые процессы повреждения. Деструктивные процессы прогрессируют и на 8-е сутки, эпидермис разрушается, отмечается клеточная инфильтрация, и процесс разрешается десквамацией эпителия.

Л.А. Африканова (1975) указывает, что особенностью развития так называемого лучевого воспаления в области демаркации поврежденных тканей является пониженная миграционная активность лейкоцитов [1]. Указанное положение отчасти подтверждается данными оценки общей клеточности. Угнетение репаративных и миграционных процессов в зоне повреждения иллюстрируется морфометрическими данными – значимого увеличения клеточности ни в сосочковом, ни в сетчатом слое на 8-е сутки не происходит. Развитие функциональных расстройств, в первую очередь нарушения кровообращения в зоне повреждения, подтверждает изменения структурно-функционального состояния эндотелиоцитов начиная с 8-х суток.

Объем некроза соединительной ткани дермы и иных тканевых структур – сосудов и жировой ткани – наи-

более вероятно является фактором прогноза для возможной самостоятельной эпителизации обширного повреждения. Это положение косвенно подтверждено исследованиями, в которых были применены биотехнологические способы восстановления так называемых мягких тканей, что являлось предиктором успеха роста эпителия по раневой поверхности [11].

Важная особенность МЛП – нарастание возникших морфологических изменений. Так, дифференцированные фибробласты, основные клеточные элементы фибробластического дифферона, на всех сроках исследования имели выраженные в разной степени деструктивные ультраструктурные изменения энергообеспечивающих органелл. Изменения в митохондриях прогрессировали от набухания и укорочения крист до вакуолизации органелл с полной потерей складок внутренней мембраны и просветления матрикса. Повреждение белоксинтезирующих органелл приводит к снижению продукции коллагена, эластина. Кроме этого, А.В. Барабанова (2010) связывает угнетение репарации соединительной ткани дермы с тем, что клеточное обновление фибробластов и эндотелиоцитов занимает больший промежуток времени в отличие от кератиноцитов [10]. Однако, если принять во внимание ранние дистрофические и некротические процессы в дерме, а также возможности миграции клеточных предшественников, едва ли эта точка зрения справедлива.

Таким образом, результаты проведенного комплексного морфологического анализа кожи экспериментальных животных в ранние сроки после высокой дозы облучения (110 Гр) показали тяжелые структурно-функциональные изменения во всех слоях кожи с тенденцией к прогрессированию. Глубокое нарушение энергообеспечения клеточных и тканевых процессов приводит к выраженному нарушению кинетики клеточных популяций и создает предпосылки к развитию язвенного дефекта в дальнейшем. Считается, что присоединение на последующих этапах морфогенеза лучевой язвы аутоиммунного компонента формирует длительно незаживающую язву. Последняя может быть рассмотрена как модель хронических язв, в том числе сосудистого генеза.

#### **Вклад авторов**

Концепция и дизайн исследования – Б.Б. Мороз, Р.В. Деев.  
Сбор и обработка материала – Р.В. Деев, П.С. Еремин,  
И.А. Чекмарева, В.Г. Лебедев, Ю.Б. Дешевой, Т.А. Насонова.  
Написание текста – Р.В. Деев.  
Редактирование – Р.В. Деев.

#### **Author contributions**

Conceived the study and designed the experiment – B.B. Moroz,  
R.V. Deev.  
Collected the data and performed the analysis – R.V. Deev,  
P.S. Eremin, I.A. Chekmareva, V.G. Lebedev, Yu.B. Deshevoy,  
T.A. Nasonova.  
Wrote the paper – R.V. Deev.  
Edited the manuscript – R.V. Deev.

**Литература/References**

1. *Африканова Л.А.* Острая лучевая травма кожи. Москва: Медицина, 1975. 192 с.  
*Afrikanova LA.* Acute radiation skin injury. Moscow: Medicine, 1975. 192 p. (In Russ.).
2. *Пиголкин Ю.И., Квачева Е.Ю.* Современные возможности судебно-медицинской экспертизы местной радиационной травмы. Судебно-медицинская экспертиза. 2012;55(3):52–55.  
*Pigolkin YuI, Kvacheva EYu.* The current potential of forensic medical expertise of a local radiation injury. Forensic medical expertise. 2012;55(3):52–55 (In Russ.).
3. *Заргарова Н.И., Владимирово О.О., Легеца В.И., Гребенюк А.Н.* Моделирование глубоких лучевых поражений кожи в эксперименте на крысах. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2014;59(3):5–11.  
*Zargarova NI, Vladimirova OO, Legeza VI, Grebenyuk AN.* Modeling of the deep injures of skin in experiment on rats. Medical radiology and radiation safety. 2014;59(3):5–11 (In Russ.).
4. *Галстян И.А., Надежина Н.М., Барабанова А.В., Кретов А.С., Каширина О.Г.* Диагностика, лечение местных лучевых поражений и их отдаленных последствий. Федеральные клинические рекомендации. ФКР ФМБА России, 2015. 61 с.  
*Galstyan IA, Nadezhina NM, Barabanova AV, Kretov AS, Kashirina OG.* Diagnostics and treatment of local radiation injuries and their long-term consequences. Federal clinical guidelines. FKR FMBA Rossii, 2015. 61 p. (In Russ.).
5. *Герасимов С.М., Шипилов В.М.* Лучевая болезнь. В кн.: С.А. Повзун, Н.Д. Клочков, М.В. Рогачев (ред.). Патологическая анатомия боевых поражений и их осложнений. Санкт-Петербург: ВМедА, 2002. С. 163–186.  
*Gerasimov SM, Shipilov VM.* Radiation sickness. In: SA Povzun, ND Klochkov, MV Rogachev (eds.). Pathological anatomy of combat injures and their complications. Saint Petersburg: VMedA, 2002. P. 163–186 (In Russ.).
6. *Данилов Р.К.* Раневой процесс: гистогенетические основы. Санкт-Петербург: ВМедА, 2008. 379 с.  
*Danilov RK.* Wound process: histogenetic basis. Saint Petersburg: VMedA, 2008. 379 p. (In Russ.).
7. *Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А., Добрынина О.А., Липенгольц А.А., Гимадова Т.И. и др.* Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013;57(4):121–123.  
*Kotenko KV, Moroz BB, Nasonova TA, Dobrynina OA, Lipengolz AA, Gimadova TI et al.* Experimental model of severe local radiation injuries of the skin after x-rays. Pathological physiology and experimental therapy. 2013;57(4):121–123 (In Russ.).
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. Available from: <http://www.worldlii.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.html>.
9. *Пасов В.В., Терехов О.В., Постнов Ю.Г., Ульянов А.А., Белая Н.С., Жариков А.А.* Новые подходы в консервативном лечении глубоких поздних лучевых повреждений мягких тканей. Радиация и риск. 2010;19(2):58–64.  
*Pasov VV, Terekhov OV, Postnov YuG, Ulyanov A.A., Belaya N.S., Zharikov A.A.* New approaches to the conservative treatment of late radiation soft tissues injuries. Radiation and risk. 2010;19(2):58–64 (In Russ.).
10. *Барабанова А.В.* Местные лучевые поражения кожи. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2010;55(5):79–84.  
*Barabanova AV.* Local radiation injury skin. Medical radiology and radiation safety. 2010; 55(5):79–84 (In Russ.).
11. *Дешевой Ю.Б., Насонова Т.А., Добрынина О.А., Деев Р.В., Лебедев В.Г., Лыршичкова А.В. и др.* Опыт применения сингенных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) жировой ткани для лечения тяжелых радиационных поражений кожи в эксперименте. Радиационная биология. Радиоэкология. 2020;60(1):26–33. DOI: 10.31857/S0869803120010063.  
*Deshevoj YuB, Nasonova TA, Dobrynina OA, Deev RV, Lebedev VG, Lyrshchikova AV et al.* Experience of application of syngeneic multipotent mesenchymal stem cells (MMSK) adipose tissue for treatment of severe radiation skin lesions at various intervals after exposure in the experiment. Radiation biology. Radioecology. 2020;60(1):26–33 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0869803120010063.

**Информация об авторах**

Роман Вадимович Деев – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова; директор по науке Института стволовых клеток человека.

Петр Серафимович Еремин – научный сотрудник Национального медицинского исследовательского центра реабилитации и курортологии.

Ирина Александровна Чекмарева – доктор биологических наук, заведующая лабораторией электронной микроскопии Национального медицинского исследовательского центра хирургии имени А.В. Вишневского.

Владимир Георгиевич Лебедев – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиационной патологии центра биомедицинских технологий Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна.

Юрий Борисович Дешевой – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиационной патологии центра биомедицинских технологий Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна.

Тамара Алексеевна Насонова – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиационной патологии центра биомедицинских технологий Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна.

Борис Борисович Мороз – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией радиационной патологии центра биомедицинских технологий Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна.

**Author information**

Roman V. Deev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Pathology Department, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; Science Director, Human Stem Cells Institute.

<https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>

Petr S. Eremin – Researcher, National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology.

<https://orcid.org/0000-0001-8832-8470>

Irina A. Chekmareva – Dr. Sci (Biol.), Head of the Laboratory of Electron Microscopy, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery.

<https://orcid.org/0000-0003-0126-4473>

Vladimir G. Lebedev – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Radiation Pathology, Center of Biomedical Technologies, A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center.

<https://orcid.org/0000-0002-4622-7329>

Yuriy B. Deshevoy – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Radiation Pathology, Center of Biomedical Technologies, A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center.

<https://orcid.org/0000-0003-2755-5674>

Tamara A. Nasonova – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Radiation Pathology, Center of Biomedical Technologies, A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center.

<https://orcid.org/0000-0003-1511-4329>

Boris B. Moroz – Dr. Sci (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Radiation Pathology, Center of Biomedical Technologies, A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center.

<https://orcid.org/0000-0002-9982-723X>

## Влияние L-альфа-аминоадипиновой кислоты на нейроны и глиальные клетки стриатума мозга крыс

*Д.Н. Воронков, Р.М. Худоерков, Ю.В. Дикалова, А.В. Ставровская, А.С. Гущина, А.С. Ольшанский*

ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия

**Введение.** Роль взаимодействия нейронов и нейроглии в нейродегенеративном процессе остается до конца не выясненной, и в этом отношении важное значение отводится поиску новых экспериментальных моделей. L-альфа-аминоадипиновая кислота (L-AA), структурный аналог глутамата, обладающая избирательным токсическим действием на астроглию, привлекает к себе все больше внимания исследователей. Однако морфологические и нейрохимические изменения, вызываемые L-AA, изучены недостаточно. Цель исследования – охарактеризовать иммуноморфологические изменения нейроглии и нейронов в стриатуме мозга крыс при стереотаксическом введении токсина L-AA.

**Материалы и методы.** На 3-й и 12-й день после введения крысам L-AA исследовали иммунофлуоресцентными методами локализацию астроцитарных белков – GFAP, виментина и глутаминсинтетазы, а также олигодендроглии (по экспрессии циклонуклеотидфосфатазы), микроглии (Ca-связывающий белок IBA1) и нейронов (ядерный белок NeuN) и оценивали пролиферативную активность по локализации Ki67.

**Результаты.** В зоне повреждения обнаружили гибель астроцитов и снижение иммунореактивности к глутаминсинтетазе, но не выявили изменений плотности реактивной микроглии и влияния L-AA на нейроны и олигодендроглию. Погибшие астроциты замещались за счет пролиферации и миграции незрелых астроцитов, и к 12-му дню после операции формировался глиальный рубец.

**Заключение.** Локальное введение L-AA, вызывающее гибель астроцитов стриатума, может служить удобной моделью для изучения реактивных изменений астроглии и астроцитарной дисфункции при раскрытии патогенетических закономерностей нейродегенеративных процессов.

**Ключевые слова:** астроциты, стриатум, L-альфа-аминоадипиновая кислота, глиоз, глиальный токсин

**Для корреспонденции:** Дмитрий Николаевич Воронков. E-mail: voronkov@neurology.ru

**Для цитирования:** Воронков Д.Н., Худоерков Р.М., Дикалова Ю.В., Ставровская А.В., Гущина А.С., Ольшанский А.С. Влияние L-альфа-аминоадипиновой кислоты на нейроны и глиальные клетки стриатума мозга крыс. Клини. эксп. морфология. 2021;10(3):65–73. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.65-73.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Научного центра неврологии (№ АААА-А19-119091690081-1).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 29.04.2021. Получена после рецензирования 28.05.2021. Принята в печать 15.06.2021.

## Effects of L-alpha-aminoadipic acid on neurons and glia of the rat brain striatum

*D.N. Voronkov, R.M. Khudoerkov, Yu. V. Dikalova, A.V. Stavrovskaya, A.S. Guschina, A.S. Olshanskiy*

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

**Introduction.** Few published studies have examined the role of glia-neuron interactions in neurodegeneration. In this regard, the search for new experimental models is important. L-alpha-aminoadipic acid (L-AA), being a structural analogue of glutamate with a selective toxic effect on astroglia, is of particular interest. However, morphological and neurochemical changes caused by L-AA still remain unclear. The aim of the study was to characterize immunomorphological changes of glia and neurons in the striata of rats after L-AA administration.

**Materials and methods.** On days 3 and 12 after L-AA stereotaxic administration, we studied astrocytic proteins localization using immunofluorescence methods: GFAP, vimentin, glutamine synthetase, along with oligodendroglia (by cyclonucleotidphosphatase expression), microglia (IBA1 Ca-binding protein), neuronal nuclear protein NeuN, and the astroglia proliferative activity (based on Ki67 localization).

**Results.** We detected astrocyte death and a decrease in glutamine synthetase immunoreactivity in the lesioned area, but no changes in the microglia reaction and the L-AA effect on neurons and oligodendroglia.

The astrocyte loss was replenished by proliferation and migration of newly formed immature astrocytes, and a glial scar formed on day 12 after the surgery.

**Conclusion.** L-AA administration, which causes the death of striatum astrocytes in the injection area, can serve as a convenient model for studying reactive changes in astroglia and astrocytic dysfunction while revealing the pathogenetic patterns of neurodegenerative processes.

**Keywords:** astrocytes, striatum, L-alpha-aminoadipic acid, gliosis, glial toxin

**Corresponding author:** Dmitry N. Voronkov. E-mail: voronkov@neurology.ru

**For citation:** Voronkov D.N., Khudoerkov R.M., Dikalova Yu.V., Stavrovskaya A.V., Gushchina A.S., Olshanskiy A.S. Effects of L-alpha-aminoadipic acid on neurons and glia of the rat brain striatum. Clin. exp. morphology. 2021;10(3):65–73. DOI: 10.31088/CEM2021.10.3.65-73 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out in the framework of state assignment to the Research Center of Neurology (No. AAAA-A19-119091690081-1).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 29.04.2021. **Received in revised form** 28.05.2021. **Accepted** 15.06.2021.

## Введение

L-альфа-аминоадипиновая кислота (L-AA) – продукт метаболизма лизина у млекопитающих. Стереоизомер L-AA ввиду структурного сходства с глутаматом взаимодействует с белками, вовлеченными в обмен этого медиатора [1, 2]. Уровень эндогенной L-AA повышен в тканях пациентов с  $\alpha$ -кетoadипической ацидурией – редким наследственным нарушением метаболизма лизина, гидроксизина и триптофана, которое сопровождается у части из них широким спектром неврологической и психиатрической симптоматики [3]. В экспериментах показано повреждение астроцитов под влиянием L-AA [4, 5], а действие токсина охарактеризовано как *in vitro*, так и *in vivo* [6–9]. L-AA захватывается астроцитами, ингибирует Na-зависимый транспорт глутамата и нарушает его обмен, вызывая окислительный стресс, снижая синтез белка и приводя к апоптозу астроцитов [8, 10].

В последнее время в связи с ростом интереса к глинейрональным взаимодействиям в норме и при патологии увеличилось число работ с применением L-AA как глиального токсина: для оценки роли астроцитов в эпилептогенезе, развитии депрессии [11–13], исследования нейропротекторных и провоспалительных функций астроглии, при моделировании паркинсонизма и ишемического повреждения мозга [14, 15] и выяснения роли астроглии при когнитивных нарушениях [16, 17]. Было показано повреждение астроцитов при введении L-AA в разные структуры мозга – гиппокамп [9], префронтальную кору [6] и стриатум [7], однако изменения других клеточных популяций описаны неполно и требуют отдельной оценки.

Цель настоящего исследования – охарактеризовать иммуногистохимическими методами реакцию разных типов глии и нейронов в стриатуме мозга крыс Вистар при стереотаксическом введении L-альфа-аминоадипиновой кислоты.

## Материалы и методы

В работе использовали крыс Вистар, полученных из питомника «Столбовая», самцов в возрасте 3,5–4 ме-

сяца. Животных содержали в виварии Научного центра неврологии при свободном доступе к пище и воде. Манипуляции с ними осуществляли в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и международными регламентирующими документами. На исследование получено разрешение локального этического комитета (решение № 2-5/19 от 20 февраля 2019 года).

**Стереотаксическая операция.** L-альфа-аминоадипиновую кислоту (L-AA, Acros Organics, Бельгия) растворяли в 1М HCl в концентрации 120 мкг/мл и доводили до pH 7,3 с помощью 1М NaOH, после чего разбавляли 0,01М фосфатным солевым буфером (PBS) pH 7,2–7,4 (PBS, MP Biomedicals, США) до итоговой концентрации L-AA 20 мкг/мл. При помощи двойного стереотаксического манипулятора Stoelting (США) в правый стриатум (координаты по атласу Paxinos AP=1,5; L=2,5; V=4,8) вводили микрошприцем 5 мкл раствора L-AA, а в противоположное полушарие – PBS в таком же объеме. Для премедикации применяли атропин (ООО ГНЦЛС, Украина) в дозе 0,04 мг/кг подкожно. Для анестезии животным вводили золетил 100 (Virbac, Франция) в дозе 3 мг/100 г и ксиланит (ООО «НИТА-Фарм», Россия) в дозе 3 мг/кг внутримышечно.

**Иммуноморфологическое исследование.** Животных разделили на две группы: первая группа (n=6) выводилась из эксперимента через 72 часа (3 дня), вторая (n=5) – через 12 дней после операции. Первый срок соответствует периоду наибольшей пролиферации астроцитов (начало первой недели) при повреждающем воздействии, тогда как к концу второй недели глиальный рубец уже сформирован и пролиферация астроглии замедляется. Крыс декапитировали гильотиной, их мозг фиксировали 24 часа в 10% нейтральном формалине (HistoLine, Россия), затем пропитывали 30% сахарозой, замораживали и раскладывали на фронтальные срезы толщиной 12 мкм на криостате Sakura Cryo 3 (Tissue Tek, США). Для демаскировки антигенов срезы нагревали в пароварке, 12 минут в ЭДТА-буфере (EnVision Flex pH 9,0, Dako, Дания), далее их промывали в PBS с 0,1% Triton X-100 (Sigma, Германия) и инкубировали 18

часов с первичными антителами. Использовали кроличьи или мышинные антитела к белкам астроцитов [18]: глиофибрилярному белку (GFAP, клон G-A-5, Sigma, Германия), глутаминсинтетазе (GS, G2781, Sigma, Германия), виментину (Vim, клон V9, Dako, Дания), к специфическому белку микроглии IBA1 (ERP16589, Abcam, Великобритания), нейрональному ядерному белку NeuN (ERP12763, Abcam, Великобритания), к маркеру олигодендроглии – циклонуклеотидфосфатазе (CNP, CL2871, Sigma, Германия), а также к Ki67 (PA5-19462, Dako, Дания) для локализации делящихся клеток [18]. Для выявления связывания антител срезы инкубировали 4 часа с соответствующими вторичными антителами (Sigma, Германия), конъюгированными с флуорохромами CF488 или CF555. Ядра докрашивали диамидинофенилиндолом (DAPI, Sigma, Германия) и заключали срезы в среду FluoroShield (Sigma, Германия).

**Морфометрия и статистическая обработка.** Препараты исследовали под микроскопом Eclipse Ni-u (Nikon, Япония), оснащенный цифровой камерой Nikon DS-Qi (Япония). Морфометрический анализ проводили на 10–16 срезах, взятых через 48 мкм, от каждого животного, в области следа от инъекционной иглы. Исследовали не менее 25 полей зрения при увеличении объектива  $\times 20$ , на удалении не более 800 мкм от трека иглы, не захватывая зону механического повреждения ткани в области трека. Число клеток выражали в единицах на  $0,1 \text{ мм}^2$ . GFAP<sup>+</sup> астроциты выделяли на изображениях по пороговому значению яркости и оценивали занимаемый ими процент от площади поля зрения. Интенсивность окрашивания на GS оценивали на изображениях (цветовое разрешение – 8 бит, 256 градаций серого) по средней яркости поля зрения. Измерения проводили при одинаковых настройках микроскопа и камеры.

Для статистической обработки применяли программу GraphPad Prism 7.0, данные по каждому животному усредняли и вычисляли медиану, верхний и нижний квартили или, при соответствии нормальному распределению (по результатам теста Шапиро–Уилка), – среднее и среднеквадратичное отклонение  $M \pm SD$ . Для сравнения экспериментальных групп использовали непараметрический тест Краскела–Уоллиса, а для сравнения изменений при введении PBS и L-AA в левый и правый стриатум – непараметрический тест Вилкоксона (для связанных выборок).

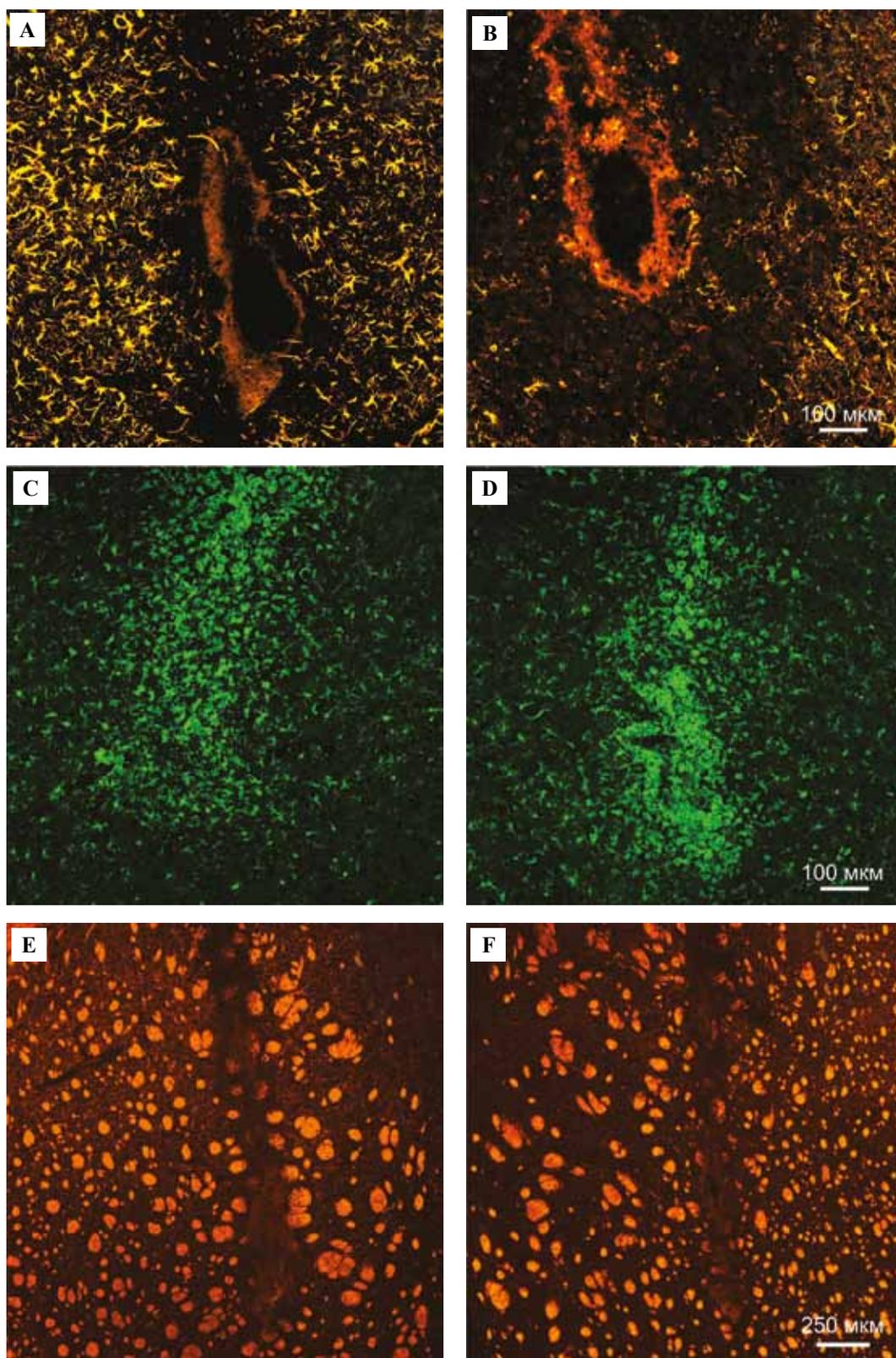
## Результаты

После введения крысам L-AA в их стриатуме через 72 часа обнаруживали зону сниженной GFAP-реактивности вокруг трека иглы (рис. 1). В нижней части ширина этой зоны составляла в среднем  $1038 \pm 84$  мкм. В области введения L-AA тела астроцитов не выявлялись или обнаруживались отдельные клетки со сниженной GFAP-реактивностью, имевшие деформированные отростки. В противоположном полушарии (введение

PBS) трек иглы был окружен валом гипертрофированных GFAP<sup>+</sup> астроцитов (рис. 1 и 2), а площадь, занимаемая ими, оказалась значимо выше, чем при введении L-AA ( $p=0,031$ ). Наряду с этим отметили и значимое снижение ( $p=0,016$ ) интенсивности окрашивания на глутаминсинтетазу (GS) (рис. 3), которую на стороне введения PBS обнаруживали в отростках GFAP<sup>+</sup> астроцитов, а в области введения L-AA ее находили преимущественно в GFAP-негативных клетках округлой формы. При выявлении IBA1 как в области введения L-AA, так и на противоположной стороне вокруг трека иглы наблюдали скопление макрофагов (рис. 1), а на удалении от области повреждения определяли активированную, гипертрофированную микроглию, лишенную тонких отростков. Плотность ее распределения в области введения L-AA составила  $93,3 \pm 12,5$  клетки на  $0,1 \text{ мм}^2$  и значимо не менялась по сравнению с областью введения PBS –  $90,9 \pm 6,4$  клетки на  $0,1 \text{ мм}^2$ . При выявлении олигодендроглии (с помощью антител к CNP) изменения локализации и интенсивности окрашивания не обнаружили (рис. 1). Плотность нейронов в стриатуме через 72 часа после введения PBS составила  $68,3 \pm 2,7$  клетки на  $0,1 \text{ мм}^2$  и значимо не менялась на стороне введения L-AA.

На 12-й день после операции плотность нейронов по сравнению с контролем значимо не менялась, а IBA1<sup>+</sup> макрофаги по-прежнему обнаруживались вблизи трека иглы. Площадь, занимаемая GFAP<sup>+</sup> астроцитами, значимо возрастала на 12-й день в обоих полушариях (Краскел–Уоллис ANOVA  $H=16,3$ ,  $p=0,001$ ; апостериорный тест Данна), а различия между ними на 12-й день нивелировались за счет сформированного отростками астроцитов глиального рубца (рис. 2).

Снижение окрашивания на GFAP и гибель астроцитов при введении L-AA в стриатум отмечали только на раннем сроке после введения L-AA, а к 12-му дню погибшие клетки замещались вновь образованными и мигрировавшими к области повреждения астроцитами. Исследование пролиферативной активности и локализации виментина – маркера незрелой астроглии на 3-й день после введения L-AA показало, что трек иглы через 72 часа после операции был окружен Vim<sup>+</sup> клетками как в области введения L-AA, так и PBS (из подсчета исключали Vim<sup>+</sup> эндотелиоциты). Однако на стороне введения L-AA плотность клеток, содержащих виментин, была значимо меньше ( $p=0,016$ ), а сами клетки не имели разветвленных отростков по сравнению с клетками на стороне введения PBS (рис. 3). На 3-й день после операции вблизи области введения L-AA обнаруживали многочисленные Ki67<sup>+</sup> ядра, принадлежащие как GFAP<sup>+</sup> астроцитам на границе области повреждения, так и клеткам, не содержащим GFAP (рис. 3). На стороне введения PBS плотность Ki67<sup>+</sup> ядер была значимо меньше ( $p=0,016$ ) по сравнению со стороной введения L-AA. К 12-му дню пролиферативная активность снижалась и в области повреждения выявляли лишь единичные Ki67<sup>+</sup> клетки.



*Рис. 1.* Изменения глиальных популяций через 72 часа после введения L-AA в стриатум.

A, B – образование GFAP-негативной зоны вокруг области введения.  $\times 10$ . C, D – активация микроглии (выявление IBA1)  $\times 10$ . E, F – отсутствие изменений локализации и экспрессии CNP,  $\times 4$ .

Введение PBS – A, C, E, введение L-AA – B, D, F

*Fig. 1.* The glial population changes 72 h after intrastriatal L-AA injection.

A, B – GFAP-negative zone formation adjacent to the injection area,  $\times 10$ . C, D – microglia activation (IBA1 staining),  $\times 10$ . E, F – no changes in the CNP localization and expression,  $\times 4$ . PBS administration – A, C, E, L-AA administration – B, D, F

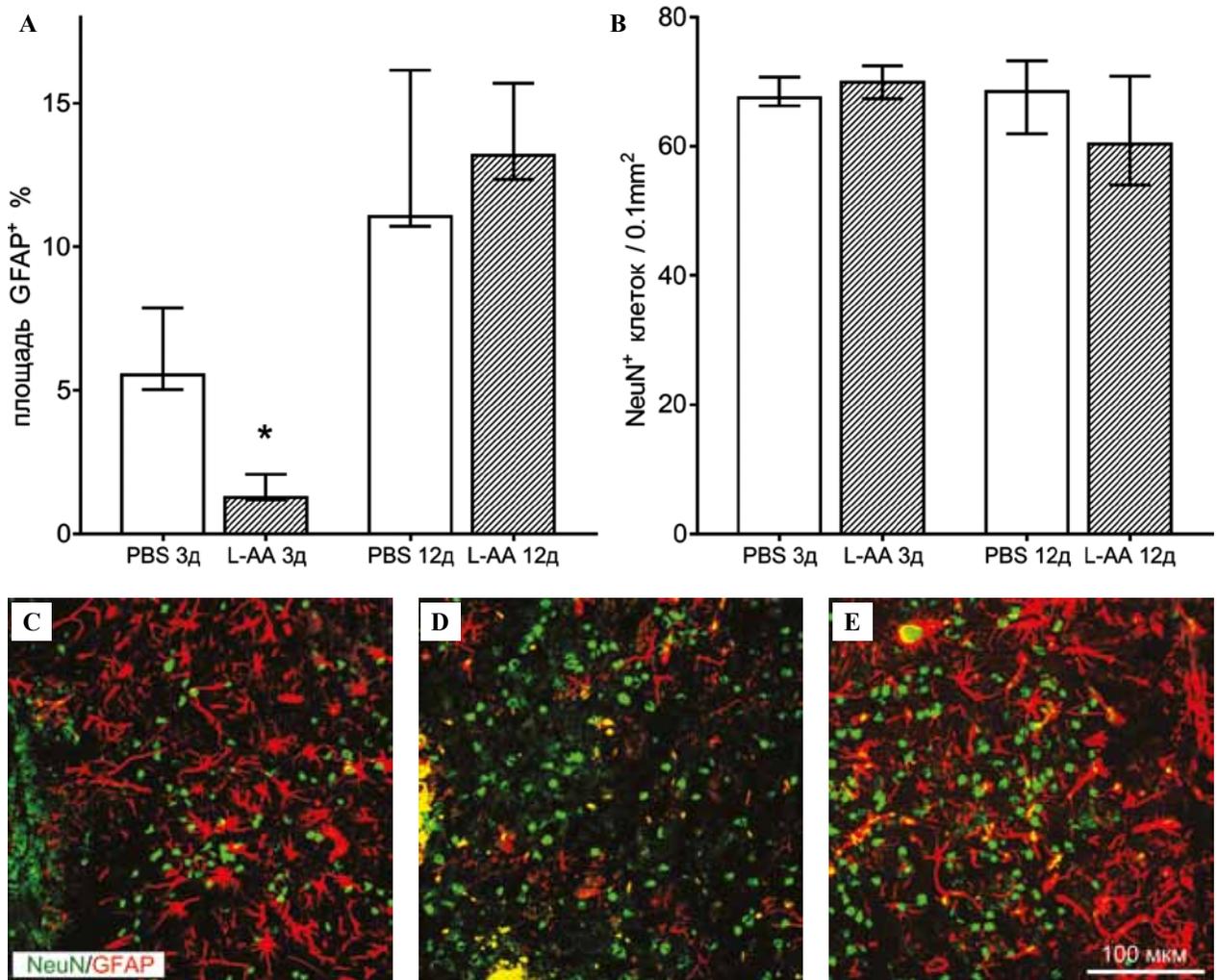


Рис. 2. Изменения иммунореактивности к GFAP и плотности нейронов в стриатуме на 3-й и 12-й день после введения L-AA. А – площадь, занимаемая GFAP-позитивными отростками астроцитов, в % от поля зрения. В – плотность нейронов (NeuN позитивных клеток). С, D, E – выявление астроцитов (GFAP, красным) и нейронов (NeuN, зеленым). С – 3 дня, введение PBS, D – 3 дня, введение L-AA, E – 12 дней, введение L-AA.  $\times 20$ . Масштабный отрезок – 100 мкм. Данные в виде Me (HQ; LQ).

\*  $p < 0.05$ , по сравнению с противоположным полушарием, тест Вилкоксона

Fig. 2. Changes in GFAP immunoreactivity and neuronal density in the striatum on days 3 and 12 after L-AA intrastriatal injection. А – the area occupied by GFAP-positive processes of astrocytes, in % from the field of view. В – the neuron density (NeuN positive cells). С, D, E – detection of astrocytes (GFAP, red) and neurons (NeuN, green). С – 3 days after PBS administration, D – 3 days after L-AA administration, E – 12 days after L-AA administration.  $\times 20$ . The scale bar is 100 microns. Data presented as Me (HQ; LQ).

\*  $p < 0.05$ , compared to the contralateral hemisphere, Wilcoxon test

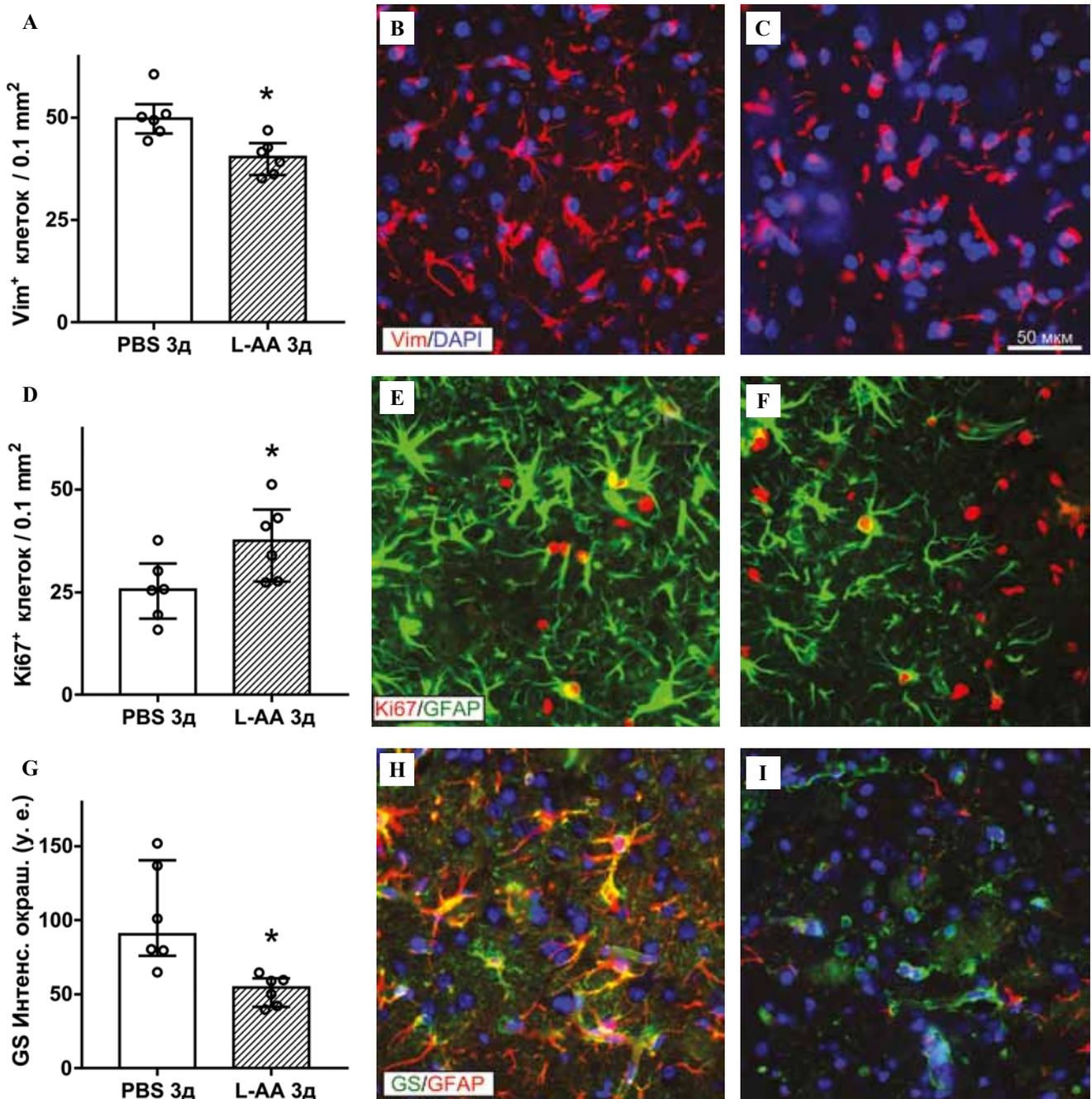


Рис. 3. Реактивные изменения астроглии при введении L-AA в стриатум (72 часа).

A–C – экспрессия виментина и число Vim-положительных клеток в области повреждения (Vim – красным, ядра докрасены DAPI). D–F – пролиферативная активность (плотность Ki67-положительных клеток) в красной зоне вблизи области введения L-AA (GFAP – зеленым, Ki67 – красным). G–I – локализация и интенсивность окрашивания на глутаминсинтетазу (GS – зеленым, GFAP – красным, ядра докрасены DAPI). Введение PBS – B, E, H; введение L-AA – C, F, I.  $\times 40$ . Масштабный отрезок – 50 мкм, одинаковый для всех изображений.

\*  $p < 0,05$ , по сравнению с противоположным полушарием, тест Вилкоксона. Данные в виде Me (HQ; LQ), точки – средние по животным

Fig. 3. Reactive changes in astroglia after L-AA intra-striatal injection (72 hours).

A–C – vimentin localization and the number of Vim-positive cells in the lesion area (Vim – red, the nuclei are counterstained with DAPI). D–F – proliferative activity (Ki67-positive cell density) in the marginal zone near the L-AA injection site (GFAP – green, Ki67 – red). G–I – localization and intensity of glutamine synthetase staining (GS – green, GFAP – red, DAPI – colored nuclei). PBS administration side – B, E, H, L-AA administration side – C, F, I.  $\times 40$ . The scale bar – 50 microns, the same for all images.

\*  $p < 0.05$ , compared to the contralateral hemisphere, Wilcoxon test. Data presented as Me (HQ; LQ), dots – the means for each animal

## Обсуждение

Стереотаксическая инъекция L-AA в стриатум вызвала локальное повреждение зрелых астроцитов в широкой зоне вокруг области введения, но не влияла на плотность микроглии и олигодендроглии, что согласуется с результатами, полученными как *in vitro*, так и *in vivo*, другими авторами [6–9]. Обнаруженное снижение иммуноокрашивания на GS дополняет данные [7, 19] о влиянии L-AA на активность GS и свидетельствует о нарушении обмена глутамата, что может вести к увеличению его концентрации в области повреждения и усилению токсического действия L-AA. Ранее было показано, что L-AA уменьшает захват глутамата и повышает его внеклеточный уровень [3], и, хотя гибель нейронов стриатума мы не выявили, можно предположить, что более высокие концентрации L-AA могут провоцировать эксайтотоксические реакции и вызывать вторичное повреждение нейронов, что было показано для нейронов мозжечка и гиппокампа [1, 4].

Активация астроглии вокруг зоны поражения, вызываемая механическим повреждением ткани при инъекции и провоспалительным ответом микроглии, со временем приводила к замещению астроцитов, погибших под действием L-AA. В нашем эксперименте введение L-AA не меняло плотность макрофагов и IBA1-позитивной микроглии по сравнению с контролем – областью повреждения ткани без введения токсина, что отличается от данных литературы о снижении реактивности микроглии при введении L-AA на моделях болезни Паркинсона [15, 20] и демиелинизации. По-видимому, отсутствие влияния L-AA на реакцию микроглии в нашем эксперименте в отличие от моделирования нейродегенерации [15, 20] объясняется особенностями механизмов активации микроглии при механическом повреждении.

Пролиферативная активность астроцитов и наличие Vim<sup>+</sup> клеток в области введения L-AA уже через 72 часа показывает, что L-AA существенно не влияет на незрелую астроглию, мигрирующую к области введения глиального токсина и замещающую поврежденные астроциты. Помимо делящихся *in situ* астроцитов в формировании глиального рубца, по данным литературы [21], участвуют и предшественники, мигрирующие из субвентрикулярной пролиферативной зоны. Большее количество Vim<sup>+</sup> глии, выявляемое при введении PBS, по сравнению с введением L-AA, вероятно, связано с экспрессией виментина зрелыми реактивными GFAP<sup>+</sup> астроцитами, тогда как в области введения L-AA обнаруживаются преимущественно незрелые Vim<sup>+</sup>/GFAP<sup>-</sup> астроциты, что подтверждается их морфологией и отсутствием экспрессии GFAP. Поскольку уровень экспрессии GFAP астроцитами зависит от их функционального состояния, и GFAP не может считаться универсальным маркером астроглии, использование GS как дополнительного астроцитарного маркера [22] в настоящем исследовании позволяет подтвердить токсическое действие L-AA на астроциты,

а не только снижение экспрессии GFAP. Вместе с тем, обнаруживаемые в области повреждения округлые GS<sup>+</sup> клетки также могут относиться как к незрелым астроцитам, так и, возможно, к олигодендроглии, что описано в литературе [22].

Таким образом, проведенное исследование показало, что интрацеребральное введение L-AA необходимо рассматривать с учетом активации астроцитов при механическом повреждении ткани и динамической реакции астроглии в ответ на действие токсина. В целом, действие L-AA как глиального токсина в эксперименте можно охарактеризовать как модель глиальной дисфункции, сочетающей повреждение и активацию астроцитов, но не полное «отключение» функций астроглии. Поскольку при нейродегенеративных заболеваниях наблюдается сочетание повреждения астроцитов и глиоза [23, 24], использование L-AA в эксперименте в качестве модели глиальной дисфункции представляется обоснованным.

## Заключение

Однократное введение L-AA в стриатум крыс вызывает быстрое избирательное повреждение и гибель зрелых GFAP-позитивных астроцитов, но не затрагивает олигодендроглию и нейроны и не влияет на выраженность реакции микроглии. К 12-му дню после введения L-AA погибшие астроциты замещаются за счет пролиферации и миграции незрелых астроцитов, и в области повреждения формируется глиальный рубец. Таким образом, интрацеребральное введение L-AA можно охарактеризовать как перспективную модель для воспроизведения астроцитарной дисфункции, сочетающей и повреждение, и реактивные изменения астроглии.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.Н. Воронков, Р.М. Худоевков, А.В. Ставровская.

Сбор и обработка материала – Д.Н. Воронков, А.В. Ставровская, Ю.В. Дикалова, А.С. Гушина, А.С. Ольшанский.

Написание текста – Д.Н. Воронков, Р.М. Худоевков.

Редактирование – Д.Н. Воронков, Р.М. Худоевков.

## Author contribution

Conceived the study and designed the experiment – D.N. Voronkov, R.M. Khudoerkov, A.V. Stavrovskaya.

Collected the data – D.N. Voronkov, A.V. Stavrovskaya, Yu.V. Dikalova, A.S. Gushchina, A.S. Olshanskiy.

Wrote the paper – D.N. Voronkov, R.M. Khudoerkov.

Edited the manuscript – D.N. Voronkov, R.M. Khudoerkov.

## Литература/References

1. Guidetti P, Schwarcz R. Determination of  $\alpha$ -amino adipic acid in brain, peripheral tissues, and body fluids using GC/MS with negative chemical ionization. *Mol Brain Res.* 2003;118(1–2):132–9. DOI: 10.1016/j.molbrainres.2003.08.004.
2. Tsai MJ, Chang YF, Schwarcz R, Brookes N. Characterization of  $\alpha$ -amino adipic acid transport in cultured rat astrocytes. *Brain Res.* 1996;741(1–2):166–73. DOI: 10.1016/S0006-8993(96)00910-9.

3. Danhauser K, Sauer SW, Haack TB, Wieland T, Staufner C, Graf E et al. DHTKD1 mutations cause 2-aminoadipic and 2-oxoadipic aciduria. *Am J Hum Genet.* 2012;91(6):1082–7. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.10.006.
4. Jäkel S, Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: A journey through the history of their ablation. *Front Cell Neurosci.* 2017;11:24. DOI: 10.3389/fncel.2017.00024.
5. Olney JW, de Gubareff T, Collins JF. Stereospecificity of the gliotoxic and anti-neurotoxic actions of alpha-aminoadipate. *Neurosci Lett.* 1980;19(3):277–82. DOI: 10.1016/0304-3940(80)90273-6.
6. Khurgel M, Koo AC, Ivy GO. Selective ablation of astrocytes by intracerebral injections of alpha-aminoadipate. *Glia.* 1996;16(4):351–8. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1136(199604)16:4<351::AID-GLIA7>3.0.CO;2-2.
7. McBean GJ. Inhibition of the glutamate transporter and glial enzymes in rat striatum by the gliotoxin, ocaminoadipate. *Br J Pharmacol.* 1994;113(2):536–40. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1994.tb17022.x.
8. Nishimura RN, Santos D, Fu ST, Dwyer BE. Induction of cell death by L-alpha-aminoadipic acid exposure in cultured rat astrocytes: Relationship to protein synthesis. *Neurotoxicology.* 2000;21(3):313–20. PMID: 10894121.
9. Takada M, Hattori T. Fine structural changes in the rat brain after local injections of gliotoxin, alpha-aminoadipic acid. *Histol Histopathol.* 1986;1(3):271–5. PMID: 2485166.
10. da Silva JC, Amaral AU, Cecatto C, Wajner A, Dos Santos Godoy K, Ribeiro RT et al.  $\alpha$ -ketoadipic acid and  $\alpha$ -aminoadipic acid cause disturbance of glutamatergic neurotransmission and induction of oxidative stress in vitro in brain of adolescent rats. *Neurotox Res.* 2017;32(2):276–90. DOI: 10.1007/s12640-017-9735-8.
11. Banasr M, Duman RS. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry.* 2008;64(10):863–70. DOI: 10.1016/j.biopsych.2008.06.008.
12. David J, Gormley S, McIntosh AL, Kebede V, Thuery G, Varidaki A et al. L-alpha-amino adipic acid provokes depression-like behaviour and a stress related increase in dendritic spine density in the pre-limbic cortex and hippocampus in rodents. *Behav Brain Res.* 2019;362:90–102. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.01.015.
13. Śmiałowska M, Szewczyk B, Woźniak M, Wawrzak-Wleciał A, Domin H. Glial degeneration as a model of depression. *Pharmacol Rep.* 2013;65(6):1572–9. DOI: 10.1016/S1734-1140(13)71518-4.
14. Sun C, Fukushi Y, Wang Y, Yamamoto S. Astrocytes protect neurons in the hippocampal CA3 against ischemia by suppressing the intracellular Ca<sup>2+</sup> overload. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:280. DOI: 10.3389/fncel.2018.00280.
15. O'Neill E, Chiara Goisis R, Haverty R, Harkin A. L-alpha-aminoadipic acid restricts dopaminergic neurodegeneration and motor deficits in an inflammatory model of Parkinson's disease in male rats. *J Neurosci Res.* 2019;97(7):804–16. DOI: 10.1002/jnr.24420.
16. Brockett AT, Kane GA, Monari PK, Briones BA, Vigneron PA, Barber GA et al. Evidence supporting a role for astrocytes in the regulation of cognitive flexibility and neuronal oscillations through the Ca<sup>2+</sup> binding protein S100 $\beta$ . *PLoS One.* 2018;13(4):e0195726. DOI: 10.1371/journal.pone.0195726.
17. Lima A, Sardinha VM, Oliveira AF, Reis M, Mota C, Silva M et al. Astrocyte pathology in the prefrontal cortex impairs the cognitive function of rats. *Mol Psychiatry.* 2014;19(7):834–41. DOI: 10.1038/mp.2013.182.
18. Д.Э. Коржевский (ред.). Иммуногистохимическое исследование головного мозга. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. 143 с. Доступно по адресу: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-00806-7/978-5-299-00806-7.pdf>. DE Korzhevskii (ed.). Immunohistochemical study of the brain. Saint Petersburg: SpecLit, 2016. 143 p. (In Russ.). Available from: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-00806-7/978-5-299-00806-7.pdf>.
19. Billet F, Costentin J, Dourmap N. Influence of glial cells in the dopamine releasing effect resulting from the stimulation of striatal  $\delta$ -opioid receptors. *Neuroscience.* 2007;150(1):131–43. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.09.004.
20. Madadi S, Pasbakhsh P, Tahmasebi F, Mortezaee K, Khanehzad M, Boroujeni FB et al. Astrocyte ablation induced by L-aminoadipate (L-AAA) potentiates remyelination in a cuprizone demyelinating mouse model. *Metab Brain Dis.* 2019;34(2):593–603. DOI: 10.1007/s11011-019-0385-9.
21. Faiz M, Sachewsky N, Gascón S, Bang KWA, Morshead CM, Nagy A. Adult neural stem cells from the subventricular zone give rise to reactive astrocytes in the cortex after stroke. *Cell Stem Cell.* 2015;17(5):624–34. DOI: 10.1016/j.stem.2015.08.002.
22. Anlauf E, Derouiche A. Glutamine synthetase as an astrocytic marker: Its cell type and vesicle localization. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:144. DOI: 10.3389/fendo.2013.00144.
23. Pekny M, Pekna M. Reactive gliosis in the pathogenesis of CNS diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(3):483–91. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.11.014.
24. Горяинов С.А., Процкий С.В., Охотин В.Е., Павлова Г.В., Ревущин А.В., Потанов А.А. О роли астроглии в головном мозге в норме и патологии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2013;7(1):45–51. Goryaynov SA, Protsky SV, Okhotin VE, Pavlova GV, Revishchin AV, Potapov AA. About astroglia in the brain and pathology. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2013;7(1):45–51 (In Russ.).

### Информация об авторах

Дмитрий Николаевич Воронков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Рудольф Михайлович Худоерков – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Юлия Владимировна Дикалова – аспирант лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Алла Вадимовна Ставровская – кандидат биологических наук, руководитель лаборатории экспериментальной патологии нервной системы Научного центра неврологии.

Анастасия Сергеевна Гущина – научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии нервной системы Научного центра неврологии.

Артем Сергеевич Ольшанский – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной патологии нервной системы Научного центра неврологии.

#### **Author information**

Dmitry N. Voronkov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Rudolf M. Khudoerov – Dr. Sci. (Med.), Chief Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0002-6951-3918>

Yulia V. Dikalova – Post-graduate Student, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0001-7941-0472>

Alla V. Stavrovskaya – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Experimental Pathology of Nervous System, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Anastasia S. Gushchina – Researcher, Laboratory of Experimental Pathology of Nervous System, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0003-3026-0279>

Artyom S. Olshanskiy – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Experimental Pathology of Nervous System, Research Center of Neurology.  
<https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>

## Рецензия на монографию «Общий канцерогенез. Теории-модели»

**О.И. Кит, А.В. Шапошников.**

Ростов-на-Дону: ИД «Меркурий», 2021. 128 с., ил., табл.

### Review on the monograph

### “General carcinogenesis. Model Theories”

**O. I. Kit, A. V. Shaposhnikov**

В монографии концентрированно изложены современные базовые положения отечественных и зарубежных исследователей о молекулярно-генетических, клеточных, органных, организменных механизмах возникновения и развития опухолевого процесса.

В предисловии авторы отметили, что пособие написано клиницистами и для клиницистов, хотя, на наш взгляд, книга представляет несомненный интерес для гораздо более широкого круга специалистов, включая научных работников, занимающихся этой проблемой, а также представителей смежных дисциплин – молекулярных биологов, иммунологов, медицинских генетиков, патологоанатомов и т.д.

Материал излагается с позиций «Теории-модели», представляющей собой логическое конструирование – выстраивание цепи последовательных туморогенных событий, происходящих вне организма человека и в нем и в конечном счете приводящих к развитию злокачественного роста.

Пособие состоит из введения, семи глав описания канцерогенеза – 1. Мутационная модель канцерогенеза; 2. Модель геномной нестабильности; 3. Дарвиновская модель; 4. Негенотоксическая модель; 5. Воспаление, иммунитет, пара- и туморальное микроокружение – предикторы и промоутеры онкогенеза; 6. Биологические особенности раковой клетки; 7. Общая картина канцерогенеза. Системный подход – и приложения.

Каждая глава сопровождается указателем литературы, включающим работы последних 3–5 лет.

В монографии имеется 25 цветных рисунков и схем, наглядно отражающих процессы канцерогенеза, и 6 таблиц.

Приложение содержит мини-словарь генетических терминов.

В главе 1 «Мутационная модель канцерогенеза» рассматриваются процессы, происходящие в окружающей среде: химические и иные канцерогены в качестве главных прямых генотоксических агентов. Определены шесть групп различных агентов, обладающих достоверной канцерогенностью для человека. Тем не менее только под влиянием определенных условий эти агенты становятся гено- и цитотоксичными и могут участвовать в канцерогенезе.

В главе 2 «Модель геномной нестабильности» обосновывается ведущая роль последней в возникновении и развитии злокачественного опухолевого роста, обсуждается значение гетерогенности опухоли, что



имеет значение в понимании изменения ее генома. Последнее обстоятельство создает трудности в диагностике и лечении злокачественных опухолей. Изучение этих молекулярно-генетических особенностей приводит к необходимости индивидуализации самой опухоли и ее «хозяйина».

В главе 3 «Дарвиновская модель» появление опухолевой клетки рассматривается с позиций переноса теории эволюции с популяционного на клеточный уровень. Эта модель объясняет мутации генов в здоровых, стареющих и в опухолевых клетках как способ эволюционного выживания.

В основу теории положены данные о соматической клональной эволюции.

В главе 4 «Негенотоксическая модель» идет речь о правомочности существования данного положения. Высказываются разные точки зрения на этот счет. Привлекает внимание позиция о связи старения клетки, организма и канцерогенеза. Дается сопоставление молекулярно-генетических механизмов старения и канцерогенеза. Эти механизмы подтверждают связь процессов онкогенеза с общими организменно-системно-органными и клеточными изменениями.

Глава 5 «Воспаление, иммунитет, пара- и туморальное микроокружение – предикторы и промоутеры онкогенеза» рассматривает воспаление в качестве инициатора и регулятора канцерогенеза. Обосновывается роль хронического воспаления в развитии туморогенного микроокружения. Важное положение – иммунологические аспекты канцерогенеза. Четко и скрупулезно

даются все составляющие лимфоцитов, в также различные типы молекул, которые распознаются как инородные антигены. Приводится подробная характеристика пара- и интра-туморального микроокружения.

В главе 6 «Биологические особенности раковой клетки» приведена общая характеристика раковой клетки на разных структурных уровнях. Обсуждаются метаболизм раковой клетки и особенности усвоения глюкозы и оксидативный стресс. Чрезвычайно интересно написаны подразделы по неоангиогенезу и молекулярным сигнальным путям. Они являются ключом к пониманию канцерогенеза.

Особый интерес, на наш взгляд, представляет подраздел главы «Метастазирование», раскрывающий механизмы, лежащие в его основе. Подчеркивается роль металлопротеиназ, E-кадгерина, а также циркулирующих в крови ДНК и РНК. Рассматриваются этапы метастазирования, что важно для понимания их в приложении к клиническим проявлениям.

В главе 7 «Общая картина канцерогенеза. Системный подход» излагается последовательность онкогенных этапов: опухолевая окружающая среда – организм в целом и его подсистемы; орган-мишень; протекторно-опухолевое микроокружение; клетка-мишень; альтерации на молекулярно-генетическом уровне, ведущие к возникновению злокачественного роста. Изучение молекулярного профиля опухолей, их фенотип и паспортизация являются важнейшими направлениями в онкологии.

Глава представляет собой синтез существующих в современной онкологии данных о возникновении и развитии опухолевого процесса.

В мини-словаре генетических терминов дается определение основных дефиниций, приводимых в мо-

нографии. Это важно, так как молодые специалисты не всегда четко знают новые термины. Словарь облегчит понимание основного текста и улучшит его восприятие. Концентрированное определение молекулярно-генетических позиций позволит читателям проникнуть в сложные механизмы канцерогенеза.

Монография написана прекрасным языком. У авторов нет устоявшихся, сухих штампованных фраз. Читается она как увлекательное повествование по канцерогенезу. Если сравнивать манеру, по стилю изложения, может быть, он напоминает в какой-то мере «Очерки гнойной хирургии» В.Ф. Войно-Ясенецкого.

В заключение авторы подчеркивают, что расширение знаний о глубинных механизмах онкогенеза, связанных с молекулярно-генетическими исследованиями, приведет к дальнейшему прогрессу в лечении злокачественных новообразований.

Издание выдержано в единой стилистике описаний канцерогенеза и прекрасно оформлено полиграфически. Отечественные онкологи получили блестящее руководство по изучению общего канцерогенеза, написанное ведущими специалистами нашей страны.

Несомненно, данное пособие займет достойное место в курсе преподавания лекций и практических занятий на кафедрах онкологии, повышения квалификации, патологической анатомии Российской Федерации.

*Л.В. Кактурский,  
член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук, профессор  
Л.М. Михалева,  
доктор медицинских наук, профессор*

## Ольга Васильевна Макарова (к 70-летию со дня рождения)

**Olga Vasilevna Makarova  
on her 70th birthday**

Ольга Васильевна Макарова родилась 5 июля 1951 года. После окончания школы в 1971 году она поступила в медицинское училище города Егорьевска Московской области, с отличием его закончила и продолжила обучение в Московском медицинском институте им. И.М. Сеченова. В 1976 году О.В. Макарова закончила медицинский институт и поступила в ординатуру Научно-исследовательского института морфологии человека, в лабораторию общей патологической анатомии, возглавляемую академиком А.И. Струковым. После окончания ординатуры с 1978 года в течение трех лет она проходила обучение в аспирантуре. Под руководством академика А.И. Струкова ею была выполнена и защищена кандидатская диссертация на тему «Морфология иммунопатологических реакций при ревматоидном синовите». В 1988 году Ольга Васильевна Макарова, будучи старшим научным сотрудником, перешла во Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, где шесть лет занималась проблемой структурных основ адаптации легких к гипоксии. В 1994 году Ольга Васильевна перешла в Институт фтизиопульмонологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, в патологоанатомическое отделение, где вела научные исследования в области доклинической оценки эффективности лекарственных средств. За этот период она подготовила докторскую диссертацию на тему «Морфологические основы реактивности легких при адаптации к гипоксии и при воспалительных процессах» и в 1997 году успешно ее защитила. В 1999 году О.В. Макаровой было присвоено звание профессора. В 2000-м она вернулась в Научно-исследовательский институт морфологии человека и была избрана заместителем директора по научной работе. В это время ею была создана лаборатория иммуноморфологии воспаления, которая работает уже 21 год. В 2015–2018 годы Ольга Васильевна Макарова была директором Научно-исследовательского института морфологии человека.

Сегодня Ольга Васильевна является ведущим специалистом в области изучения фундаментальных основ воспаления и иммунитета, ее многочисленные научные труды посвящены проблемам иммуноморфологии, клеточной и молекулярной биологии воспалительных заболеваний и их половых, возрастных и индивидуальных особенностей, а также доклинической оценке эффективности лекарственных средств.

О.В. Макарова внесла весомый вклад в разработку методологии проведения работ по эксперимен-



тальному моделированию воспалительных заболеваний человека, таких как сепсис, язвенный колит, хронический простатит, гранулематозные заболевания и т.д. Под ее руководством была проведена работа по изучению основных клеточных и молекулярно-биологических механизмов воспалительных и иммунных реакций, зависящих от пола, возраста, исходной устойчивости к гипоксии. Установлено, что системный воспалительный ответ и локальные проявления воспалительных реакций тяжелее протекают у особой мужского пола препубертатного возраста и определяются исходно низкой устойчивостью к гипоксии, что является фундаментальной основой для разработки новых подходов к персонализированной терапии воспалительных заболеваний.

При непосредственном участии Ольги Васильевны Макаровой на экспериментальных моделях воспалительных и опухолевых заболеваний человека проведена доказательная оценка эффективности более 20 отечественных лекарственных средств, в частности будесонида, арбидола, амиксина, нанодоксорибуцина и т.д.

О.В. Макарова – автор 367 научных работ, в том числе пяти монографий, трех глав в монографиях и двух глав в руководствах, пяти изобретений. Ольга Васильевна вносит большой вклад в подготовку научных кадров, совмещая научную работу с педагогической деятельностью. В течение 38 лет она ведет авторские спецкурсы по общей патологической анатомии и спланхнологии на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Под руководством О.В. Макаровой выполнены и защищены пять докторских

и 26 кандидатских диссертаций. В настоящее время она является научным руководителем двух кандидатских диссертаций и одной дипломной работы.

Ольга Васильевна Макарова активно участвует в общественной жизни института и ведет большую научно-организационную работу; она является заместителем председателя диссертационного совета при НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, членом диссертационного совета биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, членом редколлегии журнала «Архив патологии», заместителем главного редактора журнала «Клиническая и экспериментальная морфология», членом президи-

ума Российского и Московского обществ патолого-анатомов. Награждена медалью «В память 850-летия Москвы».

Ольга Васильевна Макарова пользуется высоким авторитетом в коллективе и заслуженным уважением научной общественности России.

Коллектив сотрудников Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына и редакционная коллегия журнала «Клиническая и экспериментальная морфология» поздравляют Ольгу Васильевну с юбилеем и желают ей крепкого здоровья, энергии и новых творческих достижений.



# КОНСУЛЬТАТИВНО- ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР



## НАУЧНО- ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ РАБОТЫ

## КОНСУЛЬТАТИВНЫЕ УСЛУГИ НАУЧНЫМ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИМ ОРГАНИЗАЦИЯМ

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Патоморфологические исследования биопсийного и операционного материала
- Патоморфологическое исследование материала ветеринарных клиник и экспериментального материала
- Иммуногистохимические исследования
- Иммуноферментный анализ гормонов тиреоидной и репродуктивной панели, онкомаркеров, цитокинов, факторов роста, иммуноглобулинов
- Биохимические исследования ферментов и метаболитов
- Проточная цитофлуориметрия субпопуляций лимфоцитов и маркеров активации
- Фотодокументирование результатов исследования
- Оценка эффективности лекарственных средств на экспериментальных моделях заболеваний человека

## НАШИ ПРИОРИТЕТЫ:

- ВЫСОКОЕ КАЧЕСТВО морфологических ИССЛЕДОВАНИЙ
- ПРОФЕССИОНАЛИЗМ сотрудников и СООТВЕТСТВИЕ оборудования и методов научных исследований МЕЖДУНАРОДНЫМ СТАНДАРТАМ

## Контакты:

Адрес: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3  
Телефон: (499)120-94-79  
Телефон/факс: (499)120-80-65  
E-mail: morfolhum@mail.ru

**[www.morfolhum.ru](http://www.morfolhum.ru)**

Лицензия Федеральной службы надзора  
в сфере здравоохранения и социального развития  
№ ФС-99-01-007950 от 10 апреля 2012

