

КЛИНИЧЕСКАЯ и ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Том 11 | № 4 | 2022

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 «РНЦХ

им. акад. Б.В. Петровского»

119435, г. Москва,

Абрикосовский пер., д. 2

Адрес редакции

117418, Москва,

ул. Цюрупы, д. 3

Заведующая редакцией

Куликова К.А.

Научный редактор

Васюкова О.А.

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
агентства «Урал-Пресс»

70045 по каталогу «Пресса
России» через агентство АРЗИ

Свидетельство о регистрации
средства массовой информации
ПИ № ФС77-83521
от 24 июня 2022 года.

© НИИ морфологии человека
им. акад. А.П. Авцына
ФГБНУ РНЦХ
им. акад. Б.В. Петровского

Главный редактор

Михалева Л.М., член-корреспондент РАН, 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

Ответственные секретари

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

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

Низяева Н.В., доктор мед. наук, 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

Кориунов 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., академик 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

Волощук И.Н., доктор мед. наук,
профессор, Москва, Россия

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

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

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

Новоцадов 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

Volume **11** | No **4** | 2022

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 “Petrovsky National
Research Centre of Surgery”
Abrikosovskiy lane, 2,
Moscow, 119435, Russia

Editorial office address

Tsyurupy st., 3,
Moscow, 117418, Russia
Managing editor Kulikova K.A.
Science editor Vasyukova O.A.

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” agency catalog

70045 according to the “Pressa
Rosii” catalog via ARZI agency

The mass media registration
certificate ПИ № ФС77-83521
dated June 24, 2022

© Avtsyn Research Institute
of Human Morphology of FSBSI
“Petrovsky National Research
Centre of Surgery”

Editor-in-chief

Mikhaleva, Lyudmila M., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,
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 secretaries

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

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

Nizyaeva, Natalia V., Dr. Sci. Med., 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

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., Academician
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

Savelyev, Sergey V., Dr. Sci. Biol., Professor,
Moscow, Russia

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

Editorial review board

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

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

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

- | | | |
|---|---|--|
| <i>А.В. Шапошников, О.И. Кит,
Е.М. Непомнящая, Е.А. Юрьева</i>
Гепатоцеллюлярный рак. Современные аспекты
канцерогенеза | 5 | <i>A.V. Shaposhnikov, O.I. Kit,
E.M. Nepomnyaschaya, E.A. Yurieva</i>
Hepatocellular cancer. Current aspects
of carcinogenesis |
|---|---|--|

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ORIGINAL RESEARCH

- | | | |
|--|----|--|
| <i>Л.М. Сомова, Е.А. Коцюрбий, Е.И. Дробот,
Н.В. Крылова, И.Н. Ляпун, М.Ю. Щелканов</i>
Патоморфология лимфатических узлов
в случаях тяжелой инфекции, вызванной
SARS-CoV-2, наблюдавшихся в Приморском крае | 16 | <i>L.M. Somova, E.A. Kotsyurbiy, E.I. Drobot,
N.V. Krylova, I.N. Lyapun, M.Yu. Shchelkanov</i>
Pathomorphology of lymph nodes in patients with
severe SARS-CoV-2 infection observed in Primorsky
Krai |
| <i>А.Ю. Шаманова, Е.Л. Казачков, И.Е. Панова</i>
Морфологические особенности распределения
компонентов экстрацеллюлярного матрикса –
матриксной металлопротеиназы-9 и коллагена
IV типа в метастазирующей меланоме хориоидеи | 25 | <i>A.Yu. Shamanova, E.L. Kazachkov, I.E. Panova</i>
Morphological features of the distribution of
extracellular matrix components: MMP-9 and type IV
collagen in metastatic choroidal melanoma |
| <i>З.В. Гюева, Р.А. Вандышева, А.А. Епхивев,
А.А. Габуева, Н.Г. Дзадзиева, Л.М. Ерофеева,
Л.М. Михалева</i>
Клинико-морфологические особенности
локального амилоидоза гортани | 38 | <i>Z.V. Gioeva, R.A. Vandysheva, A.A. Ephiev,
A.A. Gabueva, N.G. Dzadziewa, L.M. Erofeeva,
L.M. Mikhaleva</i>
Clinical and morphological features of localized
laryngeal amyloidosis |

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ CASE STUDIES

- | | | |
|---|----|---|
| <i>Т.А. Гайдина, О.И. Пацап, А.С. Дворников</i>
Особенности клинической и морфологической
диагностики рецидивного меланоцитарного
невуса | 48 | <i>T.A. Gaydina, O.I. Patsap, A.S. Dvornikov</i>
Features of clinical and histological diagnosis
of recurrent melanocytic nevus |
|---|----|---|

Н.В. Мотина, Н.Г. Веселовская, Г.И. Костюченко,
А.В. Отт, В.Я. Гервальд, Ю.Г. Мотин
Морфологическая характеристика миокарда
при LAMP2-кардиомиопатии

53

*N. V. Motina, N. G. Veselovskaya, G. I. Kostyuchenko,
A. V. Ott, V. Ya. Gervald, Yu. G. Motin*
Morphological features of the myocardium
in LAMP2-cardiomyopathy

Ю.А. Ермола, А.А. Галышевская, А.А. Давыдова,
А.А. Бекетов, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов
Поражение миокарда у пациентов с COVID-19:
серия аутопсийных случаев

59

*Yu. A. Yermola, A. A. Galyshevskaya, A. A. Davydova,
A. A. Beketov, T. P. Makalish, M. A. Kriventsov*
Myocardial lesions in patients with COVID-19:
autopsy case series

МЕТОДЫ TECHNICAL NOTES

Е.И. Чумасов, Е.С. Петрова, В.Б. Самедов,
Е.А. Колос, Д.Э. Коржевский
Иммуногистохимические маркеры
для исследования органов пищеварительной
системы

70

*E. I. Chumasov, E. S. Petrova, V. B. Samedov,
E. A. Kolos, D. E. Korzhevskii*
Immunohistochemical markers to study the digestive
organs

ХРОНИКА EVENTS

II научно-практическая конференция
Межрегионального танаториологического
общества «Лучевая диагностика
для патологической анатомии
и судебно-медицинской экспертизы:
от прижизненной к посмертной»

85

II Scientific and Practical Conference
of the Interregional Thanatoradiological Society
“Radiology for anatomical pathology and forensic
medicine: from intravital to postmortem”

Гепатоцеллюлярный рак. Современные аспекты канцерогенеза

А.В. Шапошников, О.И. Кит, Е.М. Непомнящая, Е.А. Юрьева

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Современная концепция общего канцерогенеза базируется на фундаментальных знаниях об экзо- и эндогенных факторах, изменяющих гомеостатическую и тканевую основу организма–органа–клетки и ведущих к молекулярно-генетическим альтерациям с последующим патологическим неконтролируемым клеточным ростом. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – частный вариант общей концепции канцерогенеза, определяющей злокачественный рост любой локализации. В работе описаны главные молекулярно-генетические нарушения, ведущие к ГЦК, а также их связь с состоянием иммуномикроокружения, во многом определяющего возникновение и дальнейшее развитие опухолевого процесса. Эти морфологические и молекулярно-генетические факторы легли в основу новой классификации ГЦК, в которой выделены два класса опухолевого поражения печени: пролиферирующего и непролиферирующего, что определяет будущие перспективы диагностики и терапии данной патологии.

Ключевые слова: экзо- и эндогенные факторы риска, молекулярно-генетические и структурные альтерации печени, классификация гепатоцеллюлярной карциномы

Для корреспонденции: Александр Васильевич Шапошников. E-mail: alexshap@donpac.ru

Для цитирования: Шапошников А.В., Кит О.И., Непомнящая Е.М., Юрьева Е.А. Гепатоцеллюлярный рак. Современные аспекты канцерогенеза. Клин. эксп. морфология. 2022;11(4):5–15. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.5-15.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 09.03.2022. Получена после рецензирования 20.04.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Hepatocellular cancer. Current aspects of carcinogenesis

A.V. Shaposhnikov, O.I. Kit, E.M. Nepomnyaschaya, E.A. Yurieva

National Medical Research Center for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract. The modern concept of general carcinogenesis is built on the basic knowledge of exogenous and endogenous factors. They change the body–organ–cell homeostatic and tissue basis and lead to genetic and molecular alterations followed by uncontrolled abnormal cell growth. We studied hepatocellular carcinoma (HCC) as an example of malignant neoplasm carcinogenesis. The article presents some major molecular and genetic alterations resulting in HCC as well as their association with immune microenvironment that mostly determines the onset and further tumor development. These are morphological, molecular, and genetic factors on which the HCC classification we propose is based. It involves 2 tumor classes (proliferating and nonproliferating) and will enable for determining the upcoming prospects for diagnosis of and treatment for this condition.

Keywords: exogenous and endogenous risk factors, molecular and genetic and structural liver alterations, classification of hepatocellular carcinoma

Corresponding author: Alexander V. Shaposhnikov. E-mail: alexshap@donpac.ru

For citation: Shaposhnikov A.V., Kit O.I., Nepomnyaschaya E.M., Yurieva E.A. Hepatocellular cancer. Current aspects of carcinogenesis. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):5–15 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.5-15.

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

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

Received 09.03.2022. Received in revised form 20.04.2022. Accepted 25.04.2022.

Введение

Современная концепция общего канцерогенеза базируется на фундаментальных знаниях об экзо- и эндогенных факторах, изменяющих гомеостатическую и тканевую основу организма–органа–клетки и ведущих к молекулярно-генетическим альтерациям с последующим патологическим неконтролируемым клеточным ростом. Литература по этой проблеме огромна и исчисляется многими монографиями и статьями [1–5].

Общая картина возникновения злокачественного роста любой локализации представлена на рисунке 1.

Гепатоканцерогенез следует рассматривать как частный вариант, репрезентативное доказательство верности общей концепции. Вместе с тем возникновение и развитие рака печени, несомненно, имеет ряд специфических особенностей как на уровне промотирующих факторов, так и вследствие уникальных структурно-функциональных и молекулярно-генетических характеристик органа-мишени. Предлагаемый обзор литературы содержит более детальный, поэтапный анализ этих процессов.

Несколько условно картина возникновения гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) может быть представлена в виде ряда концентрических колец, несущих в себе определенные факторы влияния, обладающие дисрегулирующими канцерогенными потенциальностями (рис. 2).

А. Первое кольцо – экзогенные факторы

Группа экзогенных влияний, ведущих к возникновению ГЦК, известна давно (рис. 3, табл. 1) [6–11]. Тем не менее их вклад в гепатоканцерогенез неоднозначен как по интенсивности, так и по механизму воздействий на организм в целом и печень в частности. Необходимо учитывать наличие прямых и опосредованных и/или сочетанных влияний различных компонентов группы, а также их последовательность и продолжительность действия.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) создает почву для возникновения других патогенетических факторов – цирроза, иммуносупрессии, увеличивая риск развития ГЦК в 4 раза [12], тогда как токсиканты типа нитрозамина, винилхлорида, пестициды от-



Рис. 1. Концепция общего канцерогенеза
Fig. 1. The concept of general carcinogenesis



Рис. 2. Патогенетические кольца гепатоканцерогенеза
Fig. 2. Pathways of liver carcinogenesis

личаются прямыми генотоксическими эффектами на гепатоциты [13, 14].

Наиболее мощными туморогенными эффектами обладают хронические вирусные гепатиты В и С. Тем не менее механизмы их влияния неидентичны.

Достаточно четко прослеживаются два пути гепатоканцерогенеза, индуцированного вирусной инфекцией, – прямой и непрямой [15]. Первый обусловлен интегра-

Таблица 1 | Table 1

Экзогенные индукторы гепатоцеллюлярного рака (ГЦК) |
Exogenous inducers of hepatocellular cancer (HCC)

Фактор Factor	Относительный риск (ОР), частота возникновения ГЦК Relative risk (RR), HCC incidence
Вирусный гепатит В (HBV) Hepatitis B virus (HBV)	3–50%
Вирусный гепатит С (HCV) Hepatitis C virus (HCV)	5–20%
Вирус иммунодефицита (HIV-1) Human immunodeficiency virus (HIV-1)	ОР – 18–20% – через 60 месяцев после инфицирования – 7,7% RR – 18–20% – 60 months after contamination – 7,7%
Алкоголь (>3 доз/день) Alcohol (>3 doses/day)	ОР – 1,87–13,0% RR – 1,87–13,0%
Табакочурение Tobacco smoking	ОР – 1,86–9,0% RR – 1,86–9,0%
Химические агенты (винилхлорид, трихлорэтилен, тетрачлорэтилен, пестициды) Chemical agents (vinyl chloride, trichloroethylene, tetrachloroethylene, pesticides)	ОР – 1,3–3,18% RR – 1,3–3,18%

цией онкогенных белков (в основном HBx белок) в ДНК гепатоцитов с последующими мутациями генов *TERT*, *MLL4*, *CCNE1*, *TP53* и хромосомной нестабильностью. Второй путь (непрямой) реализуется преимущественно через хроническое воспаление, ведущее к циррозу печени. Белки гепатита С дестабилизируют гены молекулярных путей, что в конечном счете ведет к пролиферации клеток, митохондриальной дисфункции, оксидативному стрессу, нарушению липидного метаболизма [16]. Влияния других экзогенных факторов, представленных в таблице 1, существенны, но в гепатоканцерогенезе не доминируют.

Наиболее важным, но дозозависимым фактором является алкоголь. Доказано его влияние на оксидативный стресс, активацию цитокинов, метаболизм липидов и генные мутации, ведущие к нарушению функции печеночных энзимов [17, 18].

Б. Второе кольцо – общие системные эндогенные факторы гепатоканцерогенеза

Представляет собой неоднородную группу, включающую в себя множество факторов: хронические эндокринно-обменные патологические процессы и заболевания отдельных систем организма (сахарный диабет 2-го типа, избыточное питание, метаболический синдром); заболевания других органов и тканей; состояния, обусловленные естественным убыванием системных функций (старение, иммуносупрессия); болезни с наследственным компонентом (рис. 4). Большую часть группы составляют сопутствующие, предшествующие ГЦК болезни, объединенные терминами «коморбидность» и «полиморбидность».

Вклад отдельных составляющих этой группы в патогенез ГЦК неоднозначен, но главным компонентом является их полипозиционное общее воздействие на весь организм и косвенно на печень. При этом они

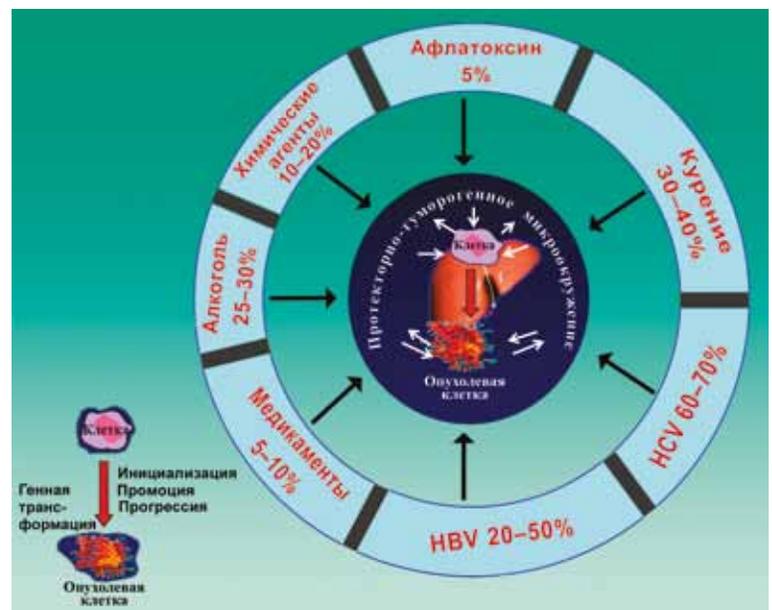


Рис. 3. Экзогенные факторы риска гепатоцеллюлярного рака
Fig. 3. HCC exogenous risk factors

оказывают канцериндукторные и промотирующие эффекты.

Несомненно, что наиболее выраженные каузальные влияния продуцируют иммунологические альтерации. Они проявляются преимущественно на локальном тканевом уровне в микроокружении опухоли. Однако иммунная система в целом (ее гуморальные и клеточные компоненты) в свою очередь становится объектом воздействия эндокринно-обменных нарушений, в частности сахарного диабета 2-го типа, избыточного питания, метаболического синдрома и других состояний. Гипергликемия с последующими молекулярными альтерациями является мощным канцерстимулирующим фактором риска. Сахарный диабет 2-го типа при ГЦК выявляется, по разным оценкам, в 13–27%, а относительный риск возникновения ГЦК составляет 1,7–2,5 [19].

Близкие показатели частоты и риска ГЦК наблюдаются у пациентов с гипералиментацией и ожирением (18–23%). Ожирение (индекс массы тела, ИМТ, >30) удваивает риск ГЦК, а при ИМТ >35 он возрастает в 4 раза [20].

Избыточное питание, сахарный диабет 2-го типа и нарушения в сердечно-сосудистой системе ведут к формированию метаболического синдрома, играющего важную роль в развитии ГЦК и создающего предпосылки для комплекса биохимических, морфологических и молекулярных альтераций в печени.

К важнейшим из них следует отнести инсулинорезистентность, ведущую к активации фактора IGF-1, промотирующего рост и пролиферацию гепатоцитов, увеличению количества свободных жирных кислот с продукцией провоспалительных цитокинов, оксидативному стрессу, прямому и/или непрямому повреждению ДНК [21, 22].

Суммарные данные о молекулярных механизмах инклюзивности метаболического синдрома в гепатоканцерогенез представлены в [23]. Мультифакторность этого процесса очевидна. Она базируется на вовлеченности основных системных и локальных участников возникновения рака печени.

К эндогенным системным изменениям следует отнести половозрастные и гормональные сдвиги в организме, требующие отдельного рассмотрения.

Наследственный компонент также играет роль в развитии ГЦК. По данным [24], герминативные (наследственные) гены выявлены у 11–14% пациентов с ГЦК. При этом 1,8–5,5% генов обладало высокой пенетрантностью. К ним относятся гены *BRCA-1,2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC*.

Обнаружено, что у родственников первой линии пациентов с ГЦК риск развития опухоли возрастает в 3,9 раза [25]. По-видимому, необходимо различать прямые и опосредованные герминативные риски. К последним следует отнести наследственный гемохроматоз, α 1-трипсин-недостаточность, болезнь Вильсона и другие, обладающие высоким онкогенным потенциалом [26]. Так, у пациентов с наследственным гемохроматозом риск развития ГЦК возрастает в 20 раз [27].

В. Печень как онкогенный матрикс

Все перечисленные экзо- и эндогенные факторы риска играют важную роль в гепатоканцерогенезе. Однако наиболее значимой составляющей этого процесса является морфологическое состояние самой печени – матрикса ГЦК.

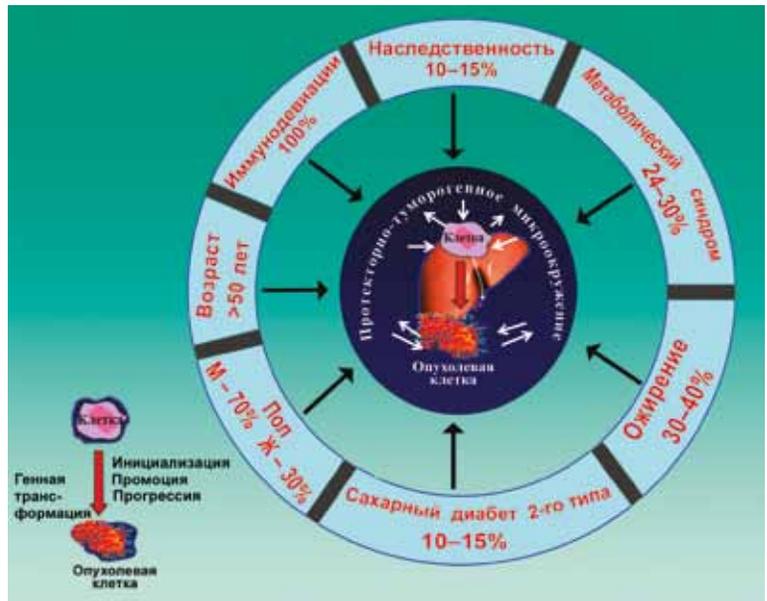


Рис. 4. Общие эндогенные предикторы гепатоцеллюлярного рака
Fig. 4. HCC common endogenous predictors

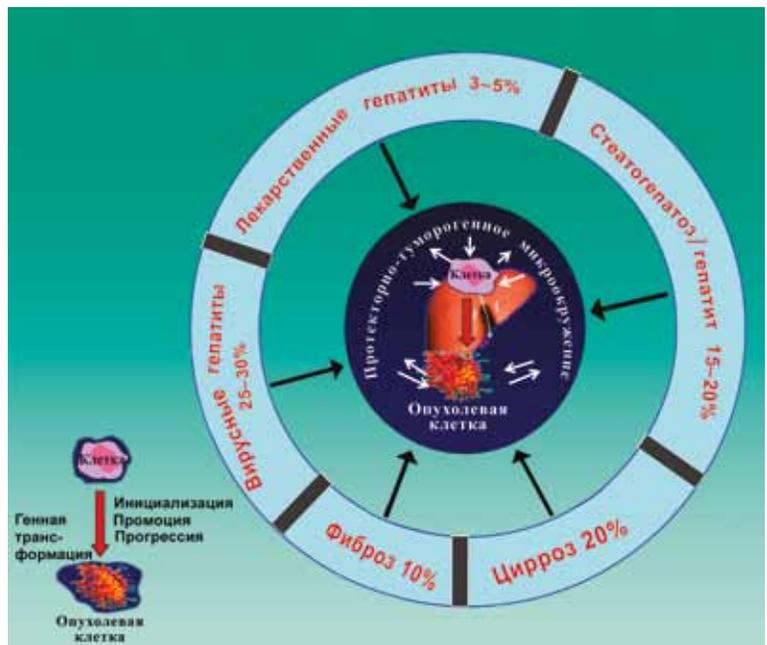


Рис. 5. Неопухолевые заболевания печени – индукторы гепатоцеллюлярного рака
Fig. 5. Nonneoplastic liver diseases as HCC inducers

На рисунке 5 представлены основные неопухолевые патологические процессы, индуцирующие и промотирующие злокачественный рост в печени [28]. Механизмы воздействия этих факторов хорошо известны. В последние годы особое внимание привлекает к себе неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП), как правило сопряженная с метаболическим синдромом и/или его составляющими. Литература, посвященная этой проблеме, обширна [29–32].

Таблица 2 | Table 2

**Соматические мутационные профили ГЦК, ассоциированные с неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП) и циррозом печени (ЦП) |
Somatic mutation profiles of HCC associated with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and liver cirrhosis (LC)**

Мутировавшие гены Mutated genes	Ассоциация с НЖБП, % Associated with NAFLD, %	Ассоциация с ЦП, % Associated with LC, %
<i>TERT</i> – промотор <i>TERT</i> – promoter	56	40–60
<i>CTNB1</i>	28	10–35
<i>TP53</i>	18	15–45
<i>ACVR 2A</i>	10	5
<i>MutSig-NASH</i>	16	–
<i>Wnt/TGFβ</i>	42	–
<i>WEGFA</i>	–	5
<i>FGF-19</i>	–	5–10
<i>ARID 1A</i>	–	5–17

По разным оценкам, НЖБП обнаружена у 10–36% пациентов с ГЦК и находится в глобальном тренде гипералIMENTации и ожирения населения мира и роста риска заболеваемости раком любой локализации.

Накопление жировых клеток в печени сопровождается оксидативным стрессом и дисфункцией митохондрий. Однако наиболее существенными считаются изменения в сигнальных путях инсулиноподобного ростового фактора (IGF), ведущего через пути Ras/Raf, JNK, mTOR к пролиферативному росту и угнетению апоптоза.

Логичное завершение воспалительного процесса независимо от его начала (вирусы, алкоголь, токсины, стеатогепатоз и т.д.) – развитие фиброзно-цирротических изменений в печени. Они имеют место у 70–80% пациентов с ГЦК и являются предрасполагающим состоянием для злокачественного роста.

В формировании фиброза/цирроза печени (ЦП) принимает участие множество клеток: гепатоциты, звездчатые клетки, миофибробласты, резидентные фиброциты, мышечные клетки сосудов, иммунные клетки и клетки желчных протоков.

Ведущую роль в фиброгенезе играют провоспалительные цитокины [33], а также возникновение локальной иммуносупрессии – промотора гепатокарциногенеза [34].

Недавно изученные молекулярные механизмы индукции ГЦК в связи с НЖБП [35], а также характер генетических (соматических) мутаций при циррозе обнаружили их однонаправленность и сопряженность с генетическим ландшафтом гепатокарциномы [36].

Генетические и эпигенетические детерминанты неалкогольной жировой болезни (GCKR, MBOAT77 и т.д.) фактически идентичны циррозу печени [23]. Они вкупе с гиперинсулинемией поддерживают хроническое воспаление, воспроизведение продуктов перекисного окисления (ROS) и угнетение окислации свободных жирных кислот с активацией сигнальных

путей mTOR и MAPK. Обязательные участники этих изменений – клетки иммунной системы (CD 8, Treg) и интерлейкины (IL-6, IL-10).

Генный ландшафт изменяется, число мутаций растет (*TERT* промоторы, *TP53*, *CTNNB1* и т.д.). Клеточная пролиферация становится неизбежной.

В таблице 2 [36–38] представлена сопоставительная частота доминирующих мутационных профилей при ассоциации стеатогепатоза, цирроза с ГЦК. Их однотипность очевидна.

Г. Молекулярно-генетические альтерации и микроокружение – основа гепатоканцерогенеза

В наших размышлениях, вероятно, чувствуется определенная искусственность выделения колец гепатоканцерогенеза и предопухолевая «скомпрометированность» печени. Очевидно, что они неразрывно патогенетически связаны, взаимозависимы, сопряжены, но вместе с тем обладают «наборами» каузальных факторов с различными канцерогенными потенциалами и собственными механизмами влияния на формирование онкопроцесса.

В течение последних десяти лет происходило постепенное накопление знаний о генетической сущности канцерогенеза в целом и гепатоканцерогенеза в частности. Это стало возможно с появлением новых технологий (флуоресцентная гибридизация *in situ* – FISH, ДНК микрочипирование, секвенирование следующего поколения – NGS и т.д.) [39], идентифицирующих генетические альтерации и мутации разной степени выраженности и частоты. Стала доступна оценка степени значимости каждого гена и его влияния на предопухолевую гистоструктуру тканей печени и собственно опухоли. В итоге сегодня известно о множестве генов, участвующих в гепатоканцерогенезе, их точной привязке к отдельным этапам развития рака.

Базовые положения о генетическом ландшафте ГЦК (рис. 6) изложены в работах S. Caruso et al., H. Takeda et al., Y. Midorikawa et al., M. Vij et al., S.Rebouisou [40–44].

Выявлены 49 главных, «элитных» соматических генов, которые в процессе канцерогенеза подвергаются разного рода альтерациям – делеции, транслокации, копированию, в том числе мутированию.

Различают шесть групп генов, подвергающихся альтерациям и ответственных за разные этапы гепатоканцерогенеза.

1. Гены теломераз (*TERT*).
2. Гены, контролирующие клеточный цикл (*ATM*, *CCND1*, *RB1* и др.).
3. Гены, участвующие в оксидативном стрессе (*KEAP1*, *NFE 2L2* и др.).
4. Гены, регулирующие эпигенетические процессы – ремоделирование хроматина, модификация гистонов (*ARID1A*, *MLL-2*, -3, -4 и др.).
5. Гены сигнальных путей Wnt/ β – катенин (*APC*, *Axin1*).
6. Гены группы АКТ/mTOR и MAPK (*RAS-RAF*, *MEK*) и др.

Обнаруживается 50–70 мутаций генов на опухоль. Большинство из них выявляется в генах-спутниках и проходит без функциональных последствий для клетки, однако от двух до шести мутировавших генов становятся драйверными, определяющими раковую эволюцию клетки. Такими генами-драйверами являются *TERT*-промоутеры (60%), *TP53* (23–31%) и онкогены WNT сигнального пути – *CTNNB1* (23–36%) [27]. Особая роль придается альтерациям генов *TERT*, регулирующих длину теломер. Укорочение последних имеет место вследствие разных онкогенных причин (старение, интоксикации, фиброз) [45].

Одним из управляющих молекулярных компонентов ГЦК являются также микроРНК (miRNA, miRs) – некодируемые РНК 21–30 нуклеотидов в длину. В настоящее время их насчитывается более 2600. Из них порядка 300 дерегулирует соматические гены, ответственные за пролиферацию, апоптоз, ангиогенез при ГЦК и ее предшественниках (воспаление, вирусы, фиброз, гепатостеатоз) [46]. «Судьба» возникших вследствие генных альтераций (мутаций) раковых клеток, их последующая трансформация, рост или гибель находятся в зависимости от опухолевого микроокружения.

Опухолевое микроокружение при ГЦК представляет собой конгломерат клеток, разных по происхождению и функциональным «обязанностям» [47–50]. В его состав входят нормальные гепатоциты и другие клетки печени, опухолевые клетки (в том числе произошедшие из стволовых), экстрацеллюлярные матричные белки, иммунные клетки. Клетки не только инфильтрируют паратуморальное пространство, но и встроены, включены в опухолевую ткань, оказывая влияние непосредственно на опухолевые клетки.

Не менее важную роль играет и экстрацеллюлярный матрикс, представляющий собой сложную сеть белков, протеогликанов, гликопротеинов, образующих супрамолекулярные агрегаты, активно взаимодействующие между собой и с опухолевыми клетками. Строма, окружающая опухоль, не является «тихим пространством».

Из общей массы клеток, находящихся в паринтратуморальном пространстве, ведущую роль, несомненно, играет иммунокружение [47, 49, 51, 52]. Оно представлено рядом иммунных клеток – более 25, разных по происхождению и обладающих как про-, так и антитуморогенными функциями.

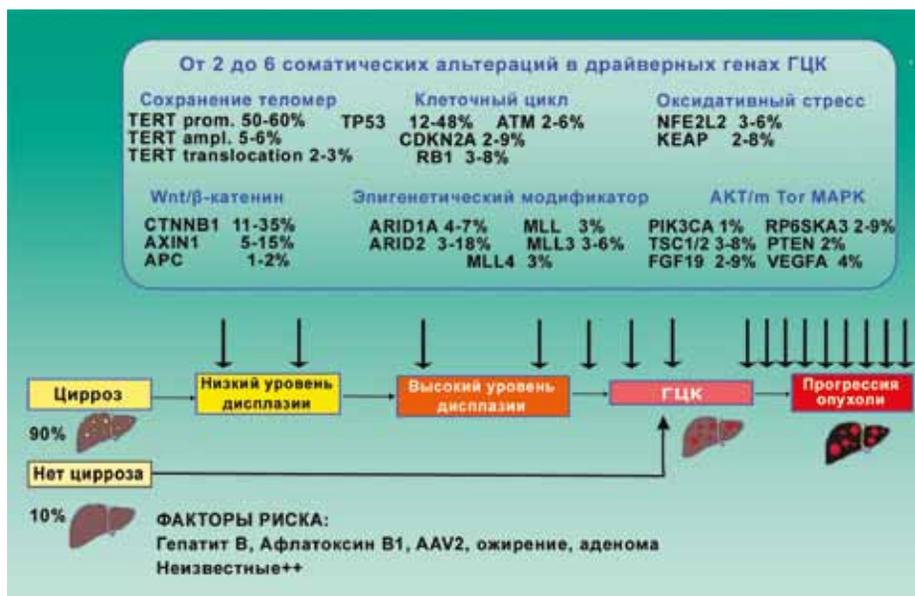


Рис. 6. Генетические альтерации в развитии гепатоцеллюлярного рака

Fig. 6. Genetic alterations in HCC development

В работе D. Briukhovetska et al. [53] приводится список из 48 интерлейкинов, участвующих в общем канцерогенезе и проявляющих свои свойства в интра- и паратуморальном «поле». Так, макрофаги секретируют цитокины, обладающие пролиферативно-стимулирующими свойствами (IL-1 β , IL-6). Туморассоциированные макрофаги экспрессируют IL-10 и TGF β , также промотирующие опухолевый рост. Натуральные киллеры являются цитотоксическими, продуцируя перфорины, гранзимы, интерферон [54–56].

Особую роль во взаимоотношениях микроокружение–опухоль играет группа Т-лимфоцитов. Т-лимфоциты кластера CD8⁺ имеют на поверхности рецепторы программированной смерти PD-1. Их экспрессия, индуцированная антигенпрезентирующими дендритными клетками, направлена на подавление опухолевого роста. Однако на мембранах опухолевых клеток присутствуют лиганды – PDL-1 и PDL-2, обладающие способностью подавлять экспрессию PD-1 и тем самым снижать цитотоксическую антитуморозную активность Т-лимфоцитов.

Немаловажное значение имеют и Т-хелперы (CD4⁺), обеспечивающие иммунологическую память лимфоцитов CD8⁺ [52].

Важно отметить, что все клеточные компоненты микроокружения, в первую очередь иммунного, функционируют в связке, кооперации друг с другом и с экстрацеллюлярным матриксом, влияя на генетический ландшафт опухоли и определяя ее рост и развитие.

Подводя итоги этой части обзора, следует подчеркнуть, что пути возникновения ГЦК лежат через главные, базовые этиопатогенетические и патоморфологические механизмы общего канцерогенеза:

- экзогенные токсические – генотоксические агенты антропогенного и природного характера, ведущие к генетическим альтерациям/мутациям;

- инфекционные агенты, реализующие себя по схеме воспаление–предопухолевые изменения–рак;
- эндогенные факторы хозяина (общие – ко- или полиморбидность и собственно печень, измененная различными локальными предопухолевыми онкогенными процессами).

В итоге, сумма этих взаимовлияний приводит к возникновению нового своеобразного «злокачественного органа» со своими специфическими метаболическими особенностями, кровоснабжением, гетерогенной структурой, автономной и одновременно органо- и организменно зависимой. Очевидно, что злокачественная опухоль в целом и гепатокарцинома в частности возникает и живет, пока живет организм.

Д. Классификация ГЦК.

Новые базовые положения

Изложенные современные представления о механизмах инициации, промоции и прогрессии ГЦК привели к необходимости пересмотра некоторых устоявшихся классификационных подходов к данной патологии. Эти инновации нашли отражение в нескольких фундаментальных статьях, опубликованных в последние годы [40, 57–59]. Квинтэссенция предлагаемых (и принятых теперь) изменений сводится к итоговой интегральной классификации ГЦК. Выделены два главных подкласса ГЦК – пролиферирующий (ПК) и непролиферирующий (НПК) (рис. 7).

Рассматриваются следующие характеристики опухолевого роста: этиологические факторы, молекулярные подклассы, патоморфологические типы, особенности сигнальных путей, эпигенетические механизмы, локальные иммунные девиации, степень васкуляризации, степень агрессивности опухоли, серологические маркеры ГЦК. Суммарные различия сведены нами в таблице 3.



Рис. 7. Интегральные характеристики пролиферирующего и непролиферирующего типов гепатоцеллюлярного рака

Fig. 7. Integral characteristics of proliferating and nonproliferating HCC subclasses.

HBV – хронический вирусный гепатит В HBV – chronic viral hepatitis B

HCV – хронический вирусный гепатит С HCV – chronic viral hepatitis C

Важно отметить, что изменения гистоструктуры опухолей также тесно связаны с дисрегуляцией молекулярных путей, мутацией генов [59]. Так, выделяют макротрабекулярный вариант ГЦК, обусловленный высокой экспрессией и мутациями гена *TP53*, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) с амплификацией фибробластного фактора роста (FGF-19) [43].

Стеатогепатитный подтип (20% опухолей) характеризуется выраженными стеатотическими изменениями в опухолевых клетках, аккумуляцией жира, баллонной дегенерацией, присутствием телец Мэллори–Денка, перицеллюлярным фиброзом с активацией сигнальных путей IL6/JAK/STAT.

Фиброламеллярная гепатокарцинома возникает как результат делеций в хромосоме 19-DNAJB1-PRKACA. При этом мутаций *TP53* Wnt/ β -catenin не отмечается.

Для скirrosной формы ГЦК более характерны мутации *TGF- β* , *TSC1/TSC2* генов.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ, WHO) в 2019 году имплементировала полученные данные в новую клиническую классификацию ГЦК. Сохраняя традиционно устоявшееся деление по стандартам TNM, сделан акцент на факторы риска, гистотипы опухолей печени и их молекулярно-генетическую подоплеку [60].

Важно отметить, что представленные новые данные о поэтапном возникновении и развитии гепатокарциномы не носят отвлеченный, сугубо теоретический, спекулятивный характер. Уже сегодня они находят отражение в клинической практике, структурированных программах мультифокальной терапии, что положительно сказывается на ее результатах.

Используется значительный набор молекулярно-таргетных агентов – сорафениб, ленватиниб, регорафениб и другие, воздействующих на рецепторы сосудистого эндотелиального фактора роста (vascular endothelial growth factor receptors, VEGFR), эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGFR), фактор роста

Таблица 3 | Table 3

Дифференциальная характеристика пролиферирующего и непролиферирующего подклассов ГЦК | Differential characteristics of proliferating and nonproliferating subclasses of HCC

Признак Characteristic	Проллиферирующий подкласс (ПК) ГЦК Proliferating subclass (PS) of HCC	Непролиферирующий подкласс (НПК) ГЦК Nonproliferating subclass (NPS) of HCC
Этиология Etiology	Хронический вирусный гепатит С, неалкогольная жировая болезнь печени, алкоголь Chronic viral hepatitis C, nonalcoholic fatty liver disease, alcohol	Хронический вирусный гепатит В, афлатоксины Chronic viral hepatitis B, aflatoxins
Соматические мутации генов Somatic gene mutations	Драйверные мутации генов <i>TP53</i> , <i>TERT</i> и <i>AXIN1</i> . Хромосомная нестабильность более типична Driver mutations of <i>TP53</i> , <i>TERT</i> , and <i>AXIN1</i> genes. Chromosomal instability is more typical	<i>CTNBI</i>
Сигнальные пути Signaling pathways	mTOR, RAS-MAPK, MET	WNT β - катенин WNT β -catenin
Иммунный пейзаж Immune landscape	Высокая степень пара- и интратуморальной инфильтрации High degree of para- and intratumoral infiltration	Инфильтрация Т-лимфоцитами. Общая низкая плотность инфильтрации Infiltration by T lymphocytes. Overall low density of infiltration
Гистологические характеристики Histological features	Полинуклеарные, плеоморфные клетки, ядерная полиплоидия, низкая дифференциация, неоангиогенез, инвазия в вены, скirrosные формы Polynuclear, pleomorphic cells, nuclear polyploidy, low differentiation, neoangiogenesis, invasion into venules, scirrhus forms	Высокая дифференциация, макротрабекулярные и псевдогландулярные паттерны, холестаз, инкапсулирование опухоли, низкие уровни ангиогенеза, венозная инвазия High differentiation, macrotrabecular and pseudoglandular patterns, cholestasis, tumor encapsulation, low levels of angiogenesis, venular invasion
Клинические показатели Clinical indicators	Выявление маркеров СА19-9, ЕpCAM, высокие уровни АФП* Detection of CA19-9 markers, EpcAM, high AFP levels	Низкие уровни АФП, СА19-9 Low levels of AFP, CA19-9
Течение Progression	Опухоли более агрессивные, прогноз хуже Tumors are more aggressive, the prognosis is worse	Прогноз лучше The prognosis is better

* АФП – альфа-фетопропротеин, СА 19-9 – раковый антиген 19-9 | AFP – alpha-fetoprotein, CA 19-9 – cancer antigen 19-9

гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF), внутриклеточные сигнальные пути (RAS–RAF–MEK–MAPK, PI3K–AKT–mTOR) опухолевых клеток. Их действие направлено на подавление ангиогенеза и роста опухолей [61].

Особое значение приобретает применение имунотаргетных препаратов (авелюмаб, атезолизумаб, дурвалюмаб, ниволюмаб), препятствующих подавляющему эффекту клеток опухоли на Т-лимфоциты в системе белков клеточной смерти и их рецепторов (PD-1/PD-L1) [62].

Наибольший терапевтический эффект был достигнут при комбинированной терапии – антиангиогенной и иммуностимулирующей. Совместное использование бевацизумаба и атезолимумаба увеличило среднюю продолжительность жизни среди пациентов с распространенной ГЦК вдвое [63].

Заключение

В обзоре приведены изменения, произошедшие в научных подходах к гепатоканцерогенезу за последнее десятилетие. Они явились плодом усилий многих исследователей как в сферах генетики, иммунологии, так и клинической медицины. В результате выявлены новые молекулярно-генетические механизмы гепатоканцерогенеза, находящиеся в тесной зависимости и взаимосвязи с состоянием организма в целом и органа-мишени (печени) в частности.

Детально рассмотрена детерминирующая многофакторная роль экзо- и эндогенных агентов, оказывающих опухолеобразующее влияние на иммуномикроокружение, структуру клеток, субклеточный аппарат и их генетическую композицию.

Выделены новые подклассы злокачественного поражения печени (пролиферирующий и непролиферирующий), даны их морфологические характеристики.

Эти данные в значительной мере дополняют, а в определенной части и изменяют наши представления о сущности возникновения и развития рака одного из важнейших органов человека и создают благоприятные перспективы для последующего усовершенствования методов диагностики и терапии данной патологии.

Литература/References

- Mendelson J, Howley PM, Israel MA, Gray JM, Thompson CB. The Molecular Basis of Cancer. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 2008. 757 p.
- Weinberg RA. The Biology of Cancer. 2nd ed. New York: Garland Science, 2014. 962 p.
- MJ Thun, MS Linet, JR Cerhan, CA Haiman, D Schottenfeld (eds.). Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2017. 1308 p. DOI: 10.1093/oso/9780190238667.001.0001.
- Luo G, Liu N. An integrative theory for cancer (Review). Int J Mol Med. 2019;43(2):647–56. DOI: 10.3892/ijmm.2018.4004.
- Kum O.I., Шапошников А.В. Общий канцерогенез. Теории–модели: Пособие для врачей. Ростов-на-Дону: Меркурий, 2021. 128 с.
Kit OI, Shaposhnikov AV. General carcinogenesis. Theories–models. Guidelines for doctors. Rostov-on-Don: Mercuriy, 2021. 128 p. (In Russ.).
- Liu Z, Jiang Y, Yuan H, Fang Q, Cai N, Suo C et al. The trends in incidence of primary liver cancer caused by specific etiologies: Results from the Global Burden of Disease Study 2016 and implications for liver cancer prevention. J Hepatol. 2019;70(4):674–83. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.12.001.
- Ibrahim NE, Aboulthana WM, Sahu RK. Hepatocellular carcinoma: Causes and prevention. Pharmaceutical and Biosciences Journal. 2018;6(5):48–55. DOI: 10.20510/ukjpb/6/i5/177354.
- D'souza S, Lau CK, Coffin CS, Patel TR. Molecular mechanisms of viral hepatitis induced by hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2020;26(38):5759–83. DOI: 10.3748/wjg.v26.i38.5759
- Petrick JL, Campbell PT, Koshiol J, Thistle JE, Andreotti G, Beane-Freeman LE et al. Tobacco, alcohol use and risk of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: The Liver Cancer Pooling Project Br J Cancer. 2018;118(7):1005–12. DOI: 10.1038/s41416-018-0007-z.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guideline: Occupational liver diseases. J Hepatol. 2019;71(5):1022–37. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.08.008.
- Turati F, Galeone C, Rota M, Pelucchi C, Negri E, Bagnardi V et al. Alcohol and liver cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol. 2014;25(8):1526–35. DOI: 10.1093/annonc/mdu020.
- Sahasrabudhe VV, Shiels MS, McGlynn KA, Engels EA. The risk of hepatocellular carcinoma among individuals with acquired immunodeficiency syndrome in the United States. Cancer. 2012;118(24):6226–33. DOI: 10.1002/cncr.27694.
- Barsouk A, Thaudra KC, Saginala K, Rawla P, Barsouk A. Chemical risk factors of primary liver cancer: An update. Hepat Med. 2021;12:179–88. DOI: 10.2147/HMER.S278070.
- Mungamuri SK, Mavuduru VA. Role of epigenetic alteration in aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma. Liver Cancer International. 2020;1(2):41–50. DOI: 10.1002/Ici2.20.
- Péneau C, Zucman-Rossi J, Nault JC. Genomics of viral hepatitis-associated liver tumors. J Clin Med. 2021;10(9):1827. DOI: 10.3390/jcm10091827.
- Dash S, Aydin Y, Widmer KE, Nayak L. Hepatocellular carcinoma mechanisms associated with chronic HCV infection and the impact of direct-acting antiviral treatment. J Hepatocell Carcinoma. 2020;7:45–76. DOI: 10.2147/JHC.S221187.
- Liu K, Verset G, Trepo E, Seth D. Genetics of alcohol-related hepatocellular carcinoma – its role in risk prediction. Hepatoma Res. 2020;6:42. DOI: 10.20517/2394-5079.2020.25
- Tanaiaqi M. Alcohol and hepatocarcinogenesis. Clin Mol Hepatol. 2020;26(4):736–41. DOI: 10.3350/cmh.2020.0203.
- Yoo JJ, Cho EJ, Han K, Heo SS, Kim BY, Shin DW et al. Glucose variability and risk of hepatocellular carcinoma in patients with diabetes: A nationwide population-based study. Cancer Epidemiol

- Biomarkers Prev. 2021;30(5):974–81. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-20-1654.
20. *Younossi ZM, Henry L.* Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma. *JHEP Rep.* 2021;3(4):100305. DOI: 10.1016/j.jhepr.2021.100305.
 21. *Singh MK, Das BK, Choudhary S, Gupta D, Patil UK.* Diabetes and hepatocellular carcinoma: A pathophysiological link and pharmacological management. *Biomed Pharmacother.* 2018;106:991–1002. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.06.095.
 22. *Ramteke P, Deb A, Shepal V, Bhat MK.* Hyperglycemia associated metabolic and molecular alterations in cancer risk. Progression, treatment, and mortality. *Cancers (Basel).* 2019;11(9):1402. DOI: 10.3390/cancers11091402.
 23. *Campani C, Nault JC.* Molecular mechanisms of liver carcinogenesis related to metabolic syndrome. *Hepatoma Res.* 2022;8:3. DOI: 10.20517/2394-5079.2021.126.
 24. *Mezina A, Philips N, Bogus Z, Erez N, Xiao R, Fan R et al.* Multigene panel testing in individuals with hepatocellular carcinoma identifies pathogenic germline variants. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00079. DOI: 10.1200/PO.21.00079.
 25. *Volk ML, Lok AS.* Is family history of liver cancer a risk factor for hepatocellular carcinoma? *J Hepatol.* 2009;50(2):247–8. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.009.
 26. *Habeeb M, Sugumaran A.* Strategies of cell signaling and critical focus on etiology of hepatocellular carcinoma. *Biointerface Res Appl Chem.* 2022;12(4):5187–98. DOI: 10.33263/BRIAC124.51875198.
 27. *Fenton SE, Burns MC, Kalyan A.* Epidemiology, mutational landscape and staging of hepatocellular carcinoma. *Chin Clin Oncol.* 2021;10(1):2. DOI: 10.21037/cco-20-162.
 28. *Шапошников А.В.* Гепатоонкопревенция. Концепция и принципы реализации: Пособие для врачей. Москва: Форте Принт, 2013. 80 с.
Shaposhnikov AV. Hepatooncoprevention. The concepts and principles of realization: Guidelines for doctors. Moscow: Forte Print, 2013. 80 p. (In Russ.).
 29. *Mitra S, De A, Chowdhury A.* Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2020;5:16. DOI: 10.21037/tgh.2019.09.08.
 30. *Myer S, Neyroud-Caspar I, Spahr L, Gkouvatso K, Fournier E, Giostra E et al.* NAFLD and MAFLD as emerging causes of HCC: A populational study. *JHEP Rep.* 2021;3(2):100231. DOI: 10.1016/j.jhepr.2021.100231.
 31. *Simon TG, Roelstraete B, Sharma R, Khalili H, Hagström H, Ludvigsson JF.* Cancer risk in patients with biopsy confirmed nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study. *Hepatology.* 2021;74(5):2410–23. DOI: 10.1002/hep.31845.
 32. *Orci LA, Sanduzzi-Zamparelli M, Caballol B, Sapena V, Colucci N, Torres F et al.* Incidence of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2022;20(2):283–92.e10. DOI: 10.1016/j.cgh.2021.05.002.
 33. *Acharya P, Chouhan K, Weiskirchen S, Weiskirchen R.* Cellular mechanisms of liver fibrosis. *Front Pharmacol.* 2021;12:671640. DOI: 10.3389/fphar.2021.671640.
 34. *Paternostro R, Sieghart W, Trauner M, Pinter M.* Cancer and hepatic steatosis. *ESMO Open.* 2021;6(4):100185. DOI: 10.1016/j.esmoop.2021.100185.
 35. *Wegermann K, Hyun J, Diehl AM.* Molecular mechanisms linking nonalcoholic steatohepatitis to cancer. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2021;17(1):6–10. DOI: 10.1002/cld.1006.
 36. *Müller M, Bird TG, Nault JC.* The landscape of gene mutations in cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2020;72(5):990–1002. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.01.019.
 37. *Pinyol R, Torrecilla S, Wang H, Montironi C, Piqué-Gili M, Torres-Martin M et al.* Molecular characterisation of hepatocellular carcinoma in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2021;75(4):865–78. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.04.049.
 38. *Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM.* Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comp Hepatol.* 2007;6:7. DOI: 10.1186/1476-5926-6-7.
 39. R Govindan, S Devarakonda (eds.). *Cancer Genomes for Clinician.* Demos Medical, Springer, 2019. 184 p. DOI: 10.1891/9780826168689.
 40. *Caruso S, O'Brien DR, Cleary SP, Roberts LR, Zucman-Rossi J.* Genetics of hepatocellular carcinoma: Approaches to explore molecular diversity. *Hepatology.* 2021;73 (Suppl 1):14–26. DOI: 10.1002/hep.31394.
 41. *Takeda H, Takai A, Eso Y, Takahashi K, Marusawa H, Seno H.* Genetic landscape of multistep hepatocarcinogenesis. *Cancers (Basel).* 2022;14(3):568. DOI: 10.3390/cancers14030568.
 42. *Midorikawa Y, Yamamoto S, Tatsuno K, Renard-Guillet C, Tsuji S, Hayashi A et al.* Accumulation of molecular aberrations distinctive to hepatocellular carcinoma progression. *Cancer Res.* 2020;80(18):3810–19. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-0225.
 43. *Vij M, Calderaro J.* Pathologic and molecular features of hepatocellular carcinoma: An update. *World J Hepatol.* 2021;13(4):393–410. DOI: 10.4254/wjh.v13.i4.393.
 44. *Rebouissou S, Nault JC.* Advances in molecular classification and precision oncology in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2020;72(2):215–29. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.08.017.
 45. *Ningarhari M, Caruso S, Hirsch TZ, Bayard Q, Franconi A, Védie AL et al.* Telomere length is key to hepatocellular carcinoma diversity and telomerase addiction is an actionable therapeutic target. *J Hepatol.* 2021;74(5):1155–66. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.11.052.
 46. *Morishita A, Oura K, Tadokoro T, Fujita K, Tani J, Masaki T.* MicroRNAs in pathogenesis of hepatocellular carcinoma: A review. *Cancers (Basel).* 2021;13(3):514. DOI: 10.3390/cancers13030514.
 47. *Zhou J, Wang W, Li Q.* Potential therapeutic targets in tumor microenvironment of hepatocellular carcinoma: Reversing the protumor effect of tumor-associated macrophages. *J Exp Clin Cancer Res.* 2021;40(1):73. DOI: 10.1186/s13046-021-01873-2.
 48. *Santhakumar C, Gane EJ, Liu K, McCaughan GW.* Current perspectives on the tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int.* 2020;14 (6):947–57. DOI: 10.1007/s12072-020-10104-3.
 49. *Polidoro MA, Mikulak J, Cazzetta V, Lleo A, Mavilio D, Torzilli G et al.* Tumor microenvironment in primary liver tumors: A challenging role of natural killer cells. *World J Gastroenterol.* 2020;26(33):4900–18. DOI: 10.3748/wjg.v26.i33.4900.

50. Petrizzo A, Mauriello A, Tornesello ML, Buonaguro FM, Tagliamonte M, Buonaguro L. Cellular prognostic markers in hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *Infect Agent Cancer*. 2018;13:10. DOI: 10.1186/s13027-018-0183-8.
51. Eble JA, Niland S. The extracellular matrix in tumor progression and metastasis. *Clin Exp Metastasis*. 2019;36(3):171–98. DOI: 10.1007/s10585-019-09966-1.
52. Qin W, Cao ZY, Liu SY, Xu XD. Recent advances regarding tumor microenvironment and Immunotherapy in hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Res*. 2020;6:24. DOI:10.20517/2394-5079.2020.04.
53. Briukhovetska D, Dörr J, Endres S, Libby P, Dinarello CA, Kobold S. Interleukins in cancer: From biology to therapy. *Nat Rev Cancer*. 2021;21(8):481–99. DOI: 10.1038/s41568-021-00363-z.
54. Sachdeva M, Chawla YK, Arora SK. Immunology of hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. 2015;7(17):2080–90. DOI: 10.4254/wjh.v7.i17.2080.
55. Giraud J, Chalopin D, Blanc JF, Saleh M. Hepatocellular carcinoma immune landscape and the potential of immunotherapies. *Front Immunol*. 2021;12:655697. DOI: 10.3389/fimmu.2021.655697.
56. Zhang Q, Lou Y, Bai XL, Liang TB. Immunometabolism: A novel perspective of liver cancer microenvironment and its influence on tumor progression. *World J Gastroenterol*. 2018;24(31):3500–12. DOI: 10.3748/wjg.v24.i31.3500.
57. Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, Singal AG, Pikarsky E, Roayaie S et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):6. DOI: 10.1038/s41572-020-00240-3.
58. Gallage S, Garcia-Beccaria M, Szydłowska M, Rahbari M, Mohr R, Tacke F et al. The therapeutic landscape of hepatocellular carcinoma. *Med (NY)*. 2021;2(5):505–52. DOI: 10.1016/j.medj.2021.03.002.
59. Rastogi A. Pathomolecular characterization of HCC in non-cirrhotic livers. *Hepatoma Res*. 2020;6:47. DOI: 10.20517/2394-5079.2020.35.
60. The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of tumours. Digestive system tumours. V. 1. 5th ed. Lyon: IARC, 2019. 635 p.
61. Niu M, Yi M, Li N, Wu K, Wu K. Advances of targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *Front Oncol*. 2021;11:719896. DOI: 10.3389/fonc.2021.719896.
62. Zhang H, Zhang W, Jiang L, Chen Y. Recent advances in systemic therapy for hepatocellular carcinoma. *Biomark Res*. 2022;10(1):3. DOI: 10.1186/s40364-021-00350-4.
63. Liu ZL, Liu JH, Staiculescu D, Chen J. Combination of molecularly targeted therapies and immune checkpoint inhibitors in the new era of unresectable hepatocellular carcinoma treatment. *Ther Adv Med Oncol*. 2021;13:17588359211018026. DOI: 10.1177/17588359211018026.

Информация об авторах

Александр Васильевич Шапошников – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии № 2 Национального медицинского исследовательского центра онкологии.

Олег Иванович Кит – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Национального медицинского исследовательского центра онкологии.

Евгения Марковна Непомнящая – доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения Национального медицинского исследовательского центра онкологии.

Екатерина Анатольевна Юрьева – ординатор отделения абдоминальной онкологии Национального медицинского исследовательского центра онкологии.

Author information

Alexander V. Shaposhnikov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Department of Abdominal Oncology No. 2, National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0001-6881-2281>

Oleg I. Kit – Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Eugenia M. Nepomnyaschaya – Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathologist, Department of Pathology, National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0003-0521-8837>

Ekaterina A. Yuryeva – Resident, Department of Abdominal Oncology No. 2, National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0003-2983-6541>

Патоморфология лимфатических узлов в случаях тяжелой инфекции, вызванной SARS-CoV-2, наблюдавшихся в Приморском крае

Л.М. Сомова¹, Е.А. Коцюрбий², Е.И. Дробот¹, Н.В. Крылова¹, И.Н. Ляпун¹, М.Ю. Щелканов^{1,3,4}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

² ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия

³ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

⁴ ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток, Россия

Резюме. *Введение.* При изучении патологии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) основное внимание обращено на поражение бронхолегочной и сердечно-сосудистой систем, с которыми связана манифестация инфекции, тогда как изменения органов лимфатической системы освещены недостаточно. К настоящему времени не вызывает сомнений факт развития дисфункции иммунной системы при COVID-19, однако сведения о поражении лимфатических узлов неоднозначны. Цель настоящего исследования – охарактеризовать морфологические изменения в прикорневых лимфатических узлах пациентов, умерших от COVID-19 во Владивостоке в 2021 году.

Материалы и методы. Проведено морфологическое исследование лимфатических узлов от 20 пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции, прижизненно диагностированной с помощью ПЦР-теста. Группой сравнения были условно здоровые люди, умершие насильственной смертью, без заболеваний кроветворной и лимфоидной ткани в анамнезе. Материал для гистологического исследования обрабатывали по общепринятым методикам.

Результаты. У всех умерших пациентов обнаружена картина лимфаденопатии с гипоплазией лимфатических узлов разной степени выраженности: в корковом веществе выявлялись лимфатические фолликулы, преимущественно без светлых (герминативных) центров, а также фолликулы с выраженным разрежением клеток и оголением ретикулярной стромы, без визуализации паракортикальной зоны. По степени выраженности реактивных изменений в Т- и В-зависимых зонах лимфатических узлов выделены два типа лимфаденопатии: 1) смешанный фолликулярный тип и 2) фолликулярная инволюция с лимфоидным истощением.

Заключение. Патоморфологические изменения в прикорневых лимфатических узлах легких у пациентов, умерших от COVID-19, свидетельствовали об иммунодепрессивном действии вируса SARS-CoV-2. Патология лимфатических узлов проявлялась лимфоцитарной деплецией в Т- и В-зависимых зонах, что указывает на дефицит клеточного и гуморального иммунитета при COVID-19 среднетяжелого и тяжелого течения.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, патоморфология, лимфатические узлы, лимфоцитарная деплеция, иммунодефицит

Для корреспонденции: Лариса Михайловна Сомова. E-mail: l_somova@mail.ru

Для цитирования: Сомова Л.М., Коцюрбий Е.А., Дробот Е.И., Крылова Н.В., Ляпун И.Н., Щелканов М.Ю. Патоморфология лимфатических узлов в случаях тяжелой SARS-CoV-2 инфекции, наблюдавшихся в Приморском крае. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):16–24. DOI: 10.31088/СЕМ2022.11.4.16-24.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора (№ 141-00089-21-02) при поддержке гранта РФФИ № 20-04-60212 «Комплексный эколого-вирусологический мониторинг коронавирусов в экосистемах Дальнего Востока».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 06.04.2022. Получена после рецензирования 28.04.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Pathomorphology of lymph nodes in patients with severe SARS-CoV-2 infection observed in Primorsky Krai

L.M. Somova¹, E.A. Kotsyurbiy², E.I. Drobot¹, N.V. Krylova¹, I.N. Lyapun¹, M.Yu. Shchelkanov^{1,3,4}

¹ Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), Vladivostok, Russia

² Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

³ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

⁴ Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Abstract. Introduction. When studying COVID-19 pathology, considerable attention is paid to the damage to the respiratory and cardiovascular systems, which are associated with the manifestation of the infection. Data on changes in the organs of the lymphatic system are yet scarce. To date, COVID-19 is sure to cause the dysfunction of the immune system; however, information about the damage to the lymph nodes is ambiguous. The aim of the study was to characterize morphological changes in the hilar lymph nodes of patients who died from a new coronavirus infection COVID-19 in Vladivostok in 2021.

Materials and methods. A morphological study of the lymph nodes was performed in 20 patients who died from the new coronavirus infection, diagnosed *in vivo* using a PCR test. The controls were patients who did not have diseases of the hematopoietic and lymphoid tissue in their medical histories but who died a violent death. The material for histological examination was processed according to generally accepted methods.

Results. In all patients, we identified lymphadenopathy with hypoplasia of lymphoid tissue of varying severity. In the cortex, lymphatic follicles were detected, mainly without light (germinal) centers, as well as follicles with a pronounced rarefaction of cells and exposure to the reticular stroma, with no visualization of the paracortical zone. According to the severity of reactive changes in the T- and B-dependent zones of the lymph nodes, we distinguished two types of lymphadenopathy: 1) mixed follicular type; 2) follicular involution with lymphoid depletion.

Conclusion. Pathological changes in the hilar lymph nodes of the lungs in patients who died from COVID-19 indicated immunosuppressive effects of the SARS-CoV-2. The pathologic changes in lymph nodes manifested with lymphocytic depletion in T- and B-dependent zones. This indicates a deficiency of cellular and humoral immunity in moderate and severe COVID-19.

Keywords: coronavirus infection, COVID-19, pathomorphology, lymph nodes, lymphocytic depletion, immunodeficiency

Corresponding author: Larisa M. Somova. E-mail: l_somova@mail.ru

For citation: Somova L.M., Kotsyurbiy E.A., Drobot E.I., Krylova N.V., Lyapun I.N., Shchelkanov M.Yu. Pathomorphology of lymph nodes in patients with severe SARS-CoV-2 infection observed in Primorsky Krai. *Clin. exp. morphology*. 2022;11(4):16–24 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.16-24.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology (No. 141-00089-21-02) and was supported by the RFBR Project No. 20-04-60212 “Integrated ecological and virological monitoring of coronaviruses in the ecosystems of the Far East”.

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

Received 06.04.2022. **Received in revised form** 28.04.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Комплексный анализ более чем 2700 аутопсий при новой коронавирусной инфекции (COVID-19), проведенный российскими патологоанатомами [1, 2], показал, что изменения в разных органах у умерших стереотипны и включают проявления вирусиндуцированного действия и системной воспалительной реакции с альтерацией преимущественно сосудов микроциркуляторного русла, приводящие к развитию гемокоагулопатических расстройств и, соответственно, тотальной гипоксии. Основное внимание исследователей обращено на поражение бронхолегочной и сердечно-сосудистой систем, с которыми связана манифестация инфекции, тогда как патология орга-

нов лимфатической системы изучена недостаточно. Отмечены опустошение T-зависимой зоны, выраженное полнокровие микроциркуляторного русла со сдвигами эритроцитов и фибрином в просвете сосудов, скопление лимфоцитов и макрофагов в синусах с явлением аутоцитотоксии [1].

Связанные с иммунитетом проявления все чаще распознаются у пациентов с COVID-19. Системный фенотип, связанный с воспалительной реакцией, вызванной SARS-CoV-2, очень широк и может напоминать фенотип некоторых аутоиммунных или воспалительных заболеваний [3].

К настоящему времени не вызывает сомнений факт развития дисфункции иммунной системы при

COVID-19 [4]. Тем не менее данные литературы о поражении лимфатических узлов неоднозначны. Так, сообщается, что внутригрудная лимфаденопатия присутствует почти в 6% случаев COVID-19 [5–7]. При идентификации возбудителя в лимфатической ткани РНК SARS-CoV-2 удалось обнаружить в прикорневых и субкаринальных лимфатических узлах как методом иммуногистохимии (моноклональные антитела к шиповому белку), так и полимеразной цепной реакции (ПЦР) [8–10]. Также установлено, что РНК SARS-CoV-2 была идентифицирована в трахее, селезенке, во всех отделах кишечника, в брыжеечных лимфатических узлах, эпителии почечных канальцев, коже, что подтверждает развитие генерализованной коронавирусной инфекции [10–13].

По некоторым сообщениям [5, 10], морфологически лимфатические узлы имели нормальную структуру фолликулов с наблюдаемой картиной гемофагоцитоза приблизительно в половине описываемых случаев. Напротив, другие специалисты [14–16] у больных, скончавшихся от тяжелой формы COVID-19, морфологически отмечали истощение лимфоидной ткани; в парабронхиальных лимфатических узлах имели место нарушение гистоархитектоники ткани, стирающие рисунок и исчезновение лимфоидных фолликулов.

Цель настоящего исследования – охарактеризовать морфологические изменения в прикорневых лимфатических узлах пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции (COVID-19) во Владивостоке в 2021 году.

Материалы и методы

Проведено морфологическое исследование лимфатических узлов от 20 пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции, прижизненно диагностированной с помощью ПЦР-теста. Для сравнения морфологических изменений в лимфатических узлах использовалась группа контроля – условно здоровые люди, умершие насильственной смертью, без заболеваний кроветворной и лимфоидной ткани в анамнезе (три человека). Образцы лимфатических узлов фиксировали в 10% растворе формалина, забуференного по Лилли, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике. Лимфатические узлы исследовали на наличие РНК SARS-Cov-2 методом ПЦР.

Результаты

В 16 из 20 исследованных летальных случаев COVID-19 тяжелого течения в прикорневых лимфатических узлах обнаружена РНК SARS-Cov-2, что подтверждает специфичность выявленных патоморфологических изменений лимфоидной ткани.

Во всех препаратах капсула лимфатических узлов оказалась сохранена, без деструктивных изменений,

краевой синус нередко был заполнен мононуклеарными клетками. В большинстве случаев в ткани лимфатических узлов выявлялись выраженные сосудистые изменения: полнокровие и расширение сосудов, эритростаз, диапедезные кровоизлияния, микроангиопатия с наличием эритроцитарных тромбов и мукоидным набуханием сосудистой стенки. У всех умерших пациентов обнаружена картина лимфаденопатии с лимфоцитарной гипоплазией разной степени выраженности:

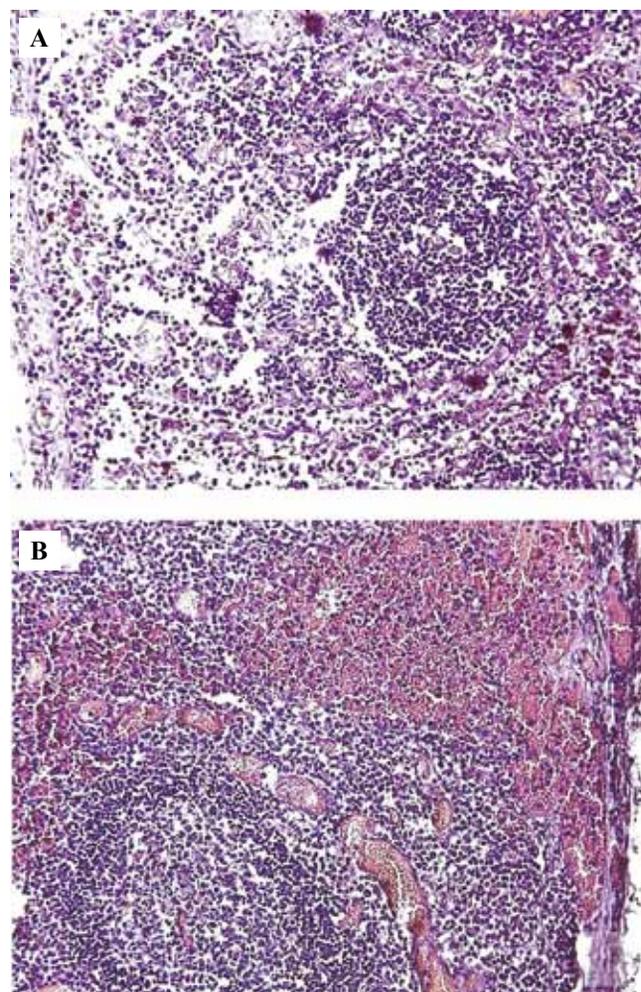


Рис. 1. Морфология лимфатических узлов пациентов, умерших от COVID-19. Лимфаденопатия смешанного фолликулярного типа.

А – разрежение лимфоцитов в субкапсулярной зоне коркового вещества, виден лимфатический фолликул без светлого центра, В – много полнокровных сосудов с эритростазом, крупное диапедезное кровоизлияние, вторичный лимфатический фолликул с зоной мантии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 1. The lymph nodes morphology of patients who died from COVID-19. Lymphadenopathy of mixed follicular type. A – rarefaction of lymphocytes in the subcapsular zone of the cortex, a lymphatic follicle is visible without a germinal center, B – many full-blooded vessels with erythrocytosis, a large diapedetic hemorrhage, the secondary lymphatic follicle with mantle zone. H&E stain, $\times 200$

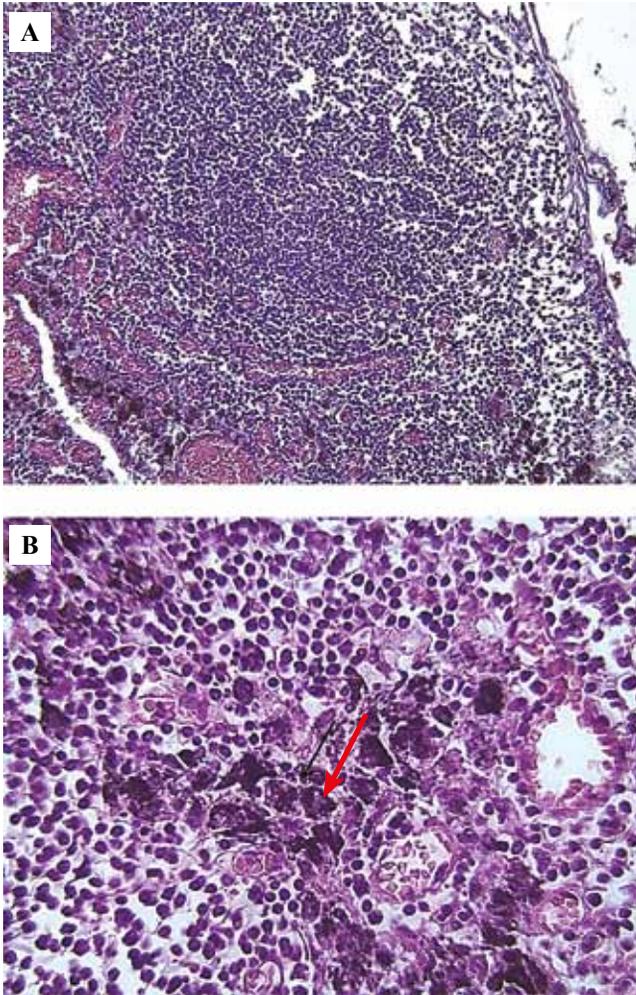


Рис. 2. Морфология лимфатических узлов пациентов, умерших от COVID-19. Лимфаденопатия смешанного фолликулярного типа.

А – в корковом веществе фолликулы без светлых центров, с диффузией лимфоцитов в окружающее пространство, определяются скопления темного пигмента. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$. В – обилие гемоглобинсодержащих макрофагов (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Fig. 2. The lymph nodes morphology of patients who died from COVID-19. Lymphadenopathy of mixed follicular type. A – follicles without germinal centers are visible in the cortex, with diffusion of lymphocytes into the surrounding space, accumulations of dark pigment are visible. H&E stain, $\times 200$. B – abundance of hemoglobin-containing macrophages (arrow). H&E stain, $\times 600$

в корковом веществе выявлялись лимфатические фолликулы, преимущественно без светлых (герминативных) центров, а также фолликулы с выраженным разрежением клеток и оголением ретикулярной стромы, без визуализации паракортикальной зоны. В целом эти реактивные изменения в Т- и В-зависимых зонах лимфатических узлов свидетельствуют о состоянии иммунодефицита разной тяжести у умерших пациентов с COVID-19.

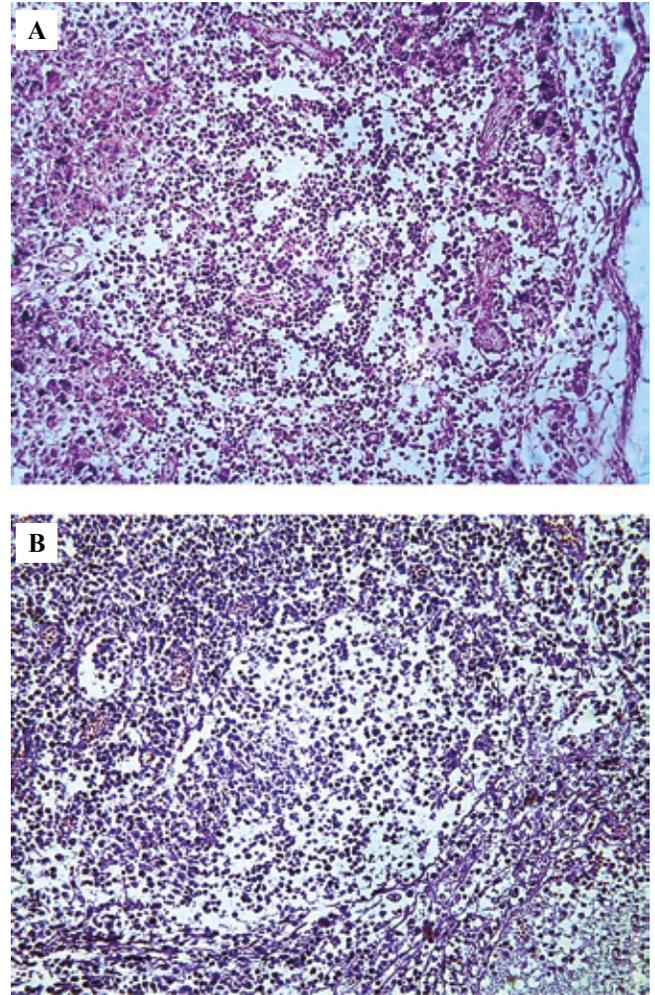


Рис. 3. Морфология лимфатических узлов пациентов, умерших от COVID-19. Лимфаденопатия смешанного фолликулярного типа.

А – выраженное разволокнение субкапсулярного слоя, гипоплазия лимфатического фолликула с оголением ретикулярной стромы, В – разрежение лимфоцитов и оголение ретикулярной стромы лимфатического фолликула. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 3. The lymph nodes morphology of patients who died from COVID-19. Lymphadenopathy of mixed follicular type. A – pronounced disintegration of the subcapsular layer, hypoplasia of the lymphatic follicle with exposure to the reticular stroma, B – rarefaction of lymphocytes and exposure to the reticular stroma of the lymphatic follicle. H&E stain, $\times 200$

При патоморфологическом исследовании препаратов обращало на себя внимание, что у умерших пациентов имелись различия в тяжести реактивных изменений лимфатических узлов в ответ на коронавирусную инфекцию. С учетом классификации лимфаденопатии при ВИЧ-инфекции, представленной в 1989 году А.П. Авцыным и соавт. [17], мы посчитали возможным по степени выраженности реактивных изменений в лимфатических узлах выделить два типа лимфаденопатии,

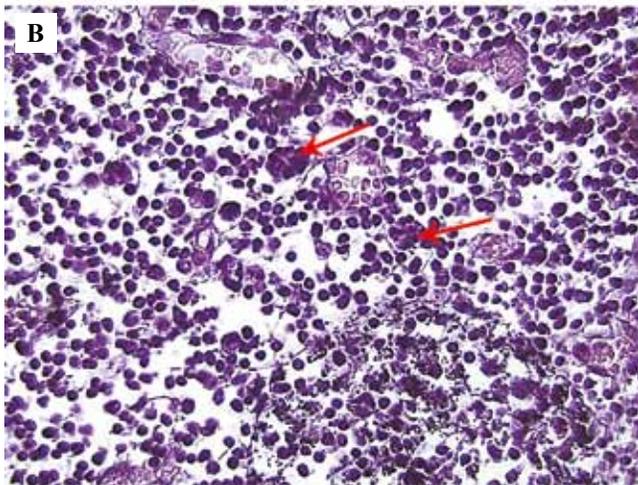
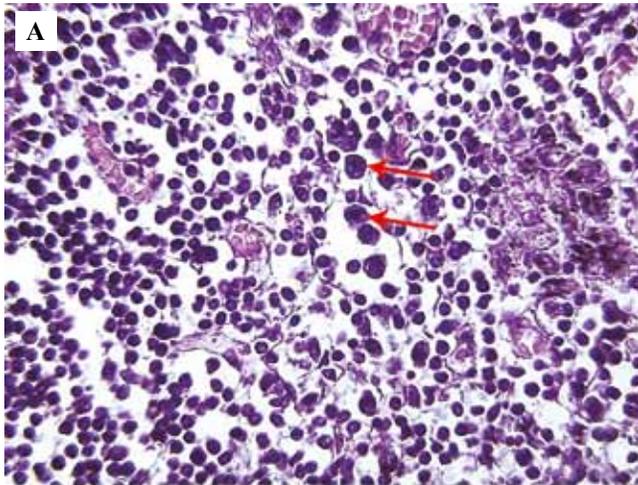


Рис. 4. Морфология лимфатических узлов пациентов, умерших от COVID-19. Лимфаденопатия смешанного фолликулярного типа при COVID-19.

А – видны немногочисленные плазмоциты (стрелки), В – апоптотические клетки (стрелки) в межфолликулярном пространстве коркового вещества. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Fig. 4. The lymph nodes morphology of patients who died from COVID-19. Lymphadenopathy of mixed follicular type. А – a few plasmacytes are visible (arrows), В – apoptotic cells (arrows) in the interfollicular space of the cortex. H&E stain, $\times 600$

ассоциированной с SARS-CoV-2: 1) смешанный фолликулярный тип; 2) фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением.

Смешанный фолликулярный тип лимфаденопатии характеризовался полнокровием сосудов микроциркуляторного русла, разрежением субкапсулярного слоя, отчетливыми лимфатическими фолликулами некротических размеров в корковом веществе, при этом чаще наблюдались лимфатические фолликулы без светлых центров, встречались также вторичные фолликулы с зоной мантии (рис. 1), что указывало на антигенную стимуляцию. Определялись резкое полнокровие микрососудов, мукоидное набухание и гиалиноз сосудистой

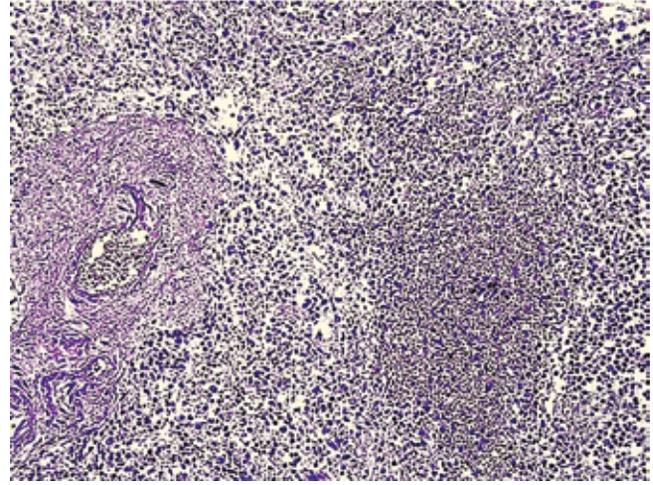
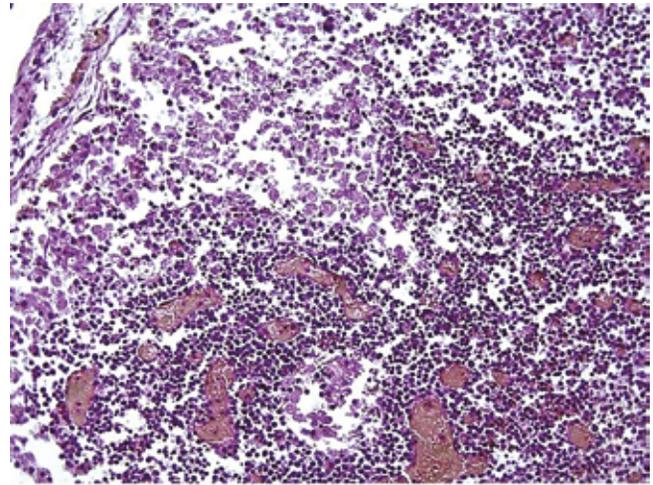


Рис. 5. Фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением у пациентов с COVID-19.

А – выраженные деструктивные изменения ткани лимфоузла, полнокровие сосудов, отек и лимфоцитарная гипоплазия, В – коллагеноз стенки сосудов, диапедезные кровоизлияния, деплеция лимфоидной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 5. Follicular involution with lymphocytic depletion in patients with COVID-19.

А – pronounced destructive changes in the tissue of the lymph node, a plethora of blood vessels, edema and lymphocytic hypoplasia, В – collagenosis of the vessel wall, diapedetic hemorrhages, depletion of lymphoid tissue. H&E stain, $\times 200$

стенки, кровоизлияния, а также обилие гемофагоцитирующих макрофагов (рис. 2). В части случаев обращали на себя внимание гипоплазия лимфатических фолликулов с оголением их ретикулярной стромы (рис. 3), разрыхление лимфоцитов в паракортикальной зоне. В межфолликулярных пространствах наблюдалась слабо выраженная плазмоцитарная реакция, иногда выявлялись апоптотические клетки (рис. 4).

Фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением характеризовалась повреждением ткани

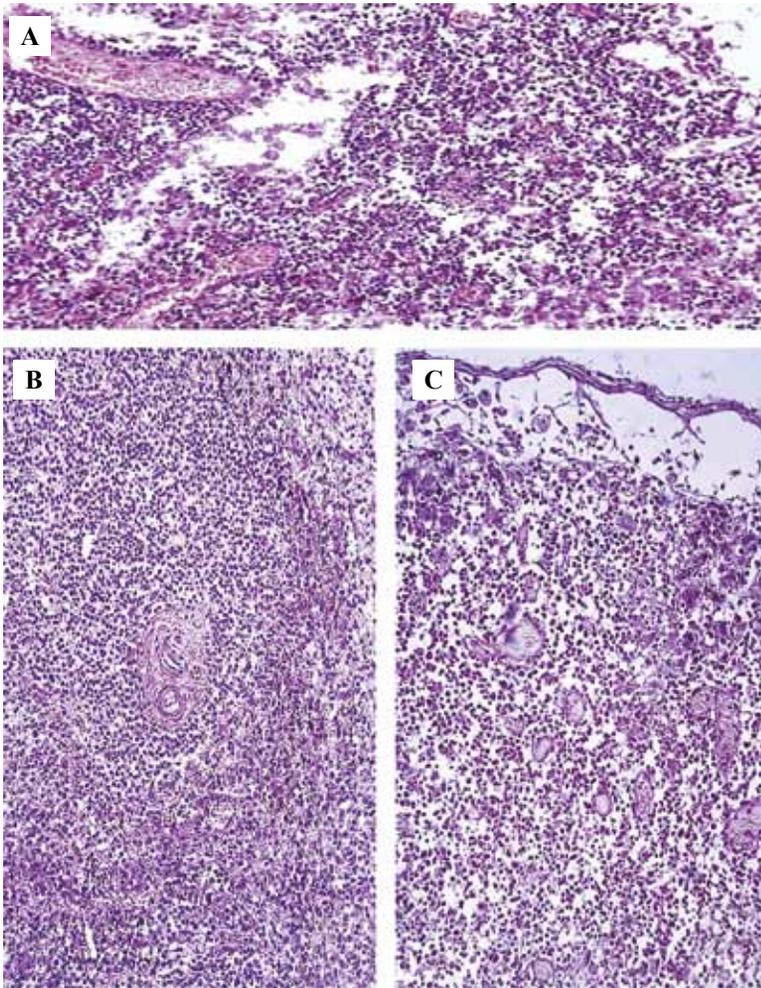


Рис. 6. Фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением у пациентов с COVID-19. А – сосудисто-деструктивные изменения с нарушением citoархитектоники лимфатического узла, отсутствие сформированных фолликулов, В – деплеция лимфатического фолликула, С – отслойка капсулы из-за тканевого отека, «выгорание» лимфоцитов коркового вещества. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 6. Follicular involution with lymphocytic depletion in patients with COVID-19. А – vascular-destructive changes with a disturbance of the cytoarchitecture of the lymph node, the absence of formed follicles, В – depletion of the lymphatic follicle, С – detachment of the capsule due to tissue edema, lymphocytes “parching” of the cortex. H&E stain, $\times 200$

с нарушением гистоархитектоники лимфатических узлов: резко выраженным полнокровием сосудов с коллагенозом сосудистой стенки и кровоизлияниями (рис. 5), «выгоранием» лимфоцитов и почти полным отсутствием сформированных лимфатических фолликулов, лимфоцитарным истощением (деплецией) ткани лимфатического узла (рис. 6). Определялись лишь рассеянные гнездовые скопления лимфоцитов, редукция паракортикальной зоны. Плазмоцитарная реакция не визуализировалась.

Обсуждение

Полученные результаты работы детализируют имеющиеся представления о патологии лимфатических узлов при COVID-19, акцентируя внимание на морфологических признаках иммунодефицита – лимфоцитарной деплеции с редукцией фолликулов и паракортикальной зоны в лимфатических узлах, отсутствии герминативных центров в лимфоидных фолликулах, являющихся основным сайтом формирования В-лимфоцитов гуморального иммунитета. По определению А.П. Авцына и соавт., лимфатические фолликулы с выраженным разрежением клеток и оголением ретикулярной стромы (терминология авторов: «сетчатый метаморфоз» фолликулов) сви-

детельствуют об иммунологической недостаточности [цит. по: 18].

На основании полученных данных мы разделяем заключение российских исследователей [19] о неэффективности гуморального ответа у пациентов с COVID-19 среднетяжелого и тяжелого течения при одновременной несостоятельности Т-клеточного иммунитета. Это согласуется с иммуногистохимическими данными зарубежных авторов при COVID-19 [6, 20, 21], указывающих на расширение субкапсулярных синусов и межфолликулярной зоны в прикорневых лимфатических узлах с разбросанными CD^{3+} Т-лимфоцитами и небольшим увеличением соотношения CD^{4+}/CD^{8+} клеток.

В 2020 году китайские и американские авторы независимо друг от друга сообщили, что у некоторых пациентов с COVID-19 в лимфатических узлах средостения, а также в селезенке было выявлено отсутствие формирования герминативных центров, указывающее на несостоятельность гуморального иммунного ответа [8, 16, 22, 23]. Уменьшение количества светлых центров в фолликулах отмечалось также в лимфатических узлах брюшной полости [8, 22]. Важным является и тот факт, что в исследуемых образцах лимфатических узлов было обнаружено значительное увеличение фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) с отсутствием

Т-фолликулярных хелперов [16, 23]. Данные изменения коррелировали со снижением уровня иммуноглобулинов М и G в сравнении с контрольной группой реконвалесцентов, находящихся в стадии сероконверсии.

Сообщается, что коронавирус ближневосточного респираторного синдрома, родственник SARS-CoV-2, эффективно инфицирует первичные Т-лимфоциты человека и активирует внешний и внутренний пути апоптоза [24]. В Китае при тяжелом остром респираторном синдроме в 2002 году в ткани лимфатических узлов и селезенки также выявлялся некроз с геморрагическим компонентом, сочетающийся с истощением пула лимфоцитов [25–27].

Несмотря на большое число публикаций об участии иммунной системы человека в патогенезе инфекционных болезней, до сих пор недостаточны знания о роли Т- и В-систем иммунитета в блокировании патологических процессов [28, 29]. Учитывая неравнозначность патоморфологических изменений в лимфатических узлах у пациентов, умерших от COVID-19, по нашему мнению, большой интерес для их понимания представляют данные литературы по феномену антителозависимого усиления вирусной инфекции у вакцинированных и переболевших [30]. Суть феномена антителозависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement, ADE) состоит в активизации инфекционного процесса в присутствии антител, специфических к возбудителю инфекционной болезни. Так, показано, что развитие феномена ADE возможно при инфекционных болезнях, вызванных вирусами Марбург [31], Эбола [32], Денге [33]. Если ADE развивается в ходе инфекционного процесса, есть основания считать, что этот феномен будет иметь место у вакцинированных людей и животных при заражении вирусом, против которого их прививали.

В связи с этим представляет интерес, что в числе инфекционных болезней, сопровождающихся развитием феномена ADE, указывается инфекционный перитонит кошек, вызываемый вирусом семейства *Coronaviridae*, – *Feline infectious peritonitis virus*, FIPV [34, 35]. Феномен ADE при клинически выраженном кошачьем инфекционном перитоните развивался у кошек, уже имевших антитела после ранее перенесенной бессимптомной инфекции, либо на фоне персистирующей инфекции в случае мутации вируса, приведшей к появлению его нового антигенного варианта [36, 37]. Также установлено, что наиболее вероятно развитие ADE у людей и животных, ранее вакцинированных против вирусных возбудителей инфекционных болезней, включая вирус кошачьего инфекционного перитонита [30, 38]. Приведенные данные позволяют предположить, что в части исследованных нами летальных случаев COVID-19, при которых в прикорневых лимфатических узлах была выявлена фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением, могло иметь место антителозависимое усиление инфекции, вызванной SARS-CoV-2.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции (COVID-19), патология лимфатических узлов с развитием лимфоцитарной деплеции в Т- и В-зависимых зонах отражает состояние дефицита клеточного и гуморального иммунитета при заболеваниях среднетяжелого и тяжелого течения. Патоморфологические изменения лимфатических узлов, ассоциированные с SARS-CoV-2, могут быть охарактеризованы как лимфаденопатия с гипоплазией лимфоидной ткани разной степени выраженности, на основании чего выделены два типа лимфаденопатии: 1) смешанный фолликулярный тип и 2) фолликулярная инволюция с лимфоцитарным истощением. Этот аспект патологии COVID-19 имеет важное научно-практическое значение в инфектологии и вакцинопрофилактике, что диктует необходимость дальнейших целенаправленных исследований.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Л.М. Сомова.

Сбор и обработка материала – Е.А. Коцюрбий, Е.И. Дробот, Н.Ф. Крылова, И.Н. Ляпун.

Написание текста – Л.М. Сомова, Е.А. Коцюрбий.

Редактирование – Л.М. Сомова, Е.А. Коцюрбий, М.Ю. Щелканов.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – L.M. Somova.

Collected the data and performed the analysis – E.A. Kotsyurbii, E.I. Drobot, N.V. Krylova, I.N. Lyapun.

Wrote the paper – L.M. Somova, E.A. Kotsyurbii.

Edited the manuscript – L.M. Somova, E.A. Kotsyurbii,

M.Yu. Shchelkanov.

Литература/References

1. Зайратьянц О.В., Самсонова М.В., Михалева Л.М., Черняев А.Л., Мишнев О.Д., Крупнов Н.М. и др. Патологическая анатомия COVID-19: Атлас / Под ред. О.В. Зайратьянца. Москва: ГБУ НИИОЗММ ДЗМ, 2020. 140 с.
Zayratyants OV, Samsonova MV, Mikhaleva LM, Chernyaev AL, Mishnev OD, Krupnov NM et al. COVID-19 anatomical pathology: Atlas / Edited by O.V. Zayratyants. Moscow: GBU NIIOZMM (Research Institute of Health Organization and Medical Management of the Moscow Department of Health), 2020. 140 p. (In Russ.).
2. Рыбакова М.Г., Карев В.Е., Кузнецова И.А. Патологическая анатомия новой коронавирусной инфекции COVID-19. Первые впечатления. Архив патологии. 2020;82(5):5–15. DOI: 10.17116/patol2020820515.
Rybakova MG, Karev V, Kuznetsova IA. Anatomical pathology of novel coronavirus (COVID-19) infection. First impressions. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology.* 2020;82(5):5–15 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol2020820515.
3. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Mariette X. Systemic and organ-specific immune-related manifestations of COVID-19. *Nat Rev Rheumatol.* 2021;17(6):315–32. DOI: 10.1038/s41584-021-00608-z.
4. Сомова Л.М., Коцюрбий Е.А., Дробот Е.И., Ляпун И.Н., Щелканов М.Ю. Клинико-морфологические проявления

- дисфункции иммунной системы при новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Клиническая и экспериментальная морфология. 2021;10(1):11–20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.11-20.
- Somova LM, Kotsyurbiy EA, Drobot EI, Lyapun IN, Shchekanov MYu.* Clinical and morphological manifestations of immune system dysfunction in new coronavirus infection (COVID-19). Clinical and experimental morphology. 2021;10(1):11–20 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.11-20.
5. *Maiese A, Manetti AC, La Russa R, Di Paolo M, Turillazzi E, Frati P et al.* Autopsy findings in COVID-19-related deaths: A literature review. *Forensic Sci Med Pathol.* 2021;17(2):279–96. DOI: 10.1007/s12024-020-00310-8.
 6. *Zhang H, Zhou P, Wei Y, Yue H, Wang Y, Hu M et al.* Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):629–32. DOI: 10.7326/M20-0533.
 7. *Roldán-Santiago E, Benito-Berlinches A, Martínez-García L, Quereda C, Rodríguez-Martín E, Pérez-Eliás P et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spreads to lymph nodes and strongly expands CD4+ effector memory RA cells in a patient with mild coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2021;73(11):e3970–3. DOI: 10.1093/cid/ciaa1422.
 8. *Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H et al.* Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest.* 2020;130(5):2620–9. DOI: 10.1172/JCI137244.
 9. *Feng Z, Diao B, Wang R, Wang G, Wang C, Tan Y et al.* The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) directly decimates human spleens and lymph nodes. *MedRxiv.* 2020; Preprint. DOI: 10.1101/2020.03.27.20045427.
 10. *Bradley BT, Maioli H, Johnston R, Chaudhry I, Fink SL, Xu H et al.* Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: A case series. *Lancet.* 2020;396(10247):320–32. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31305-2.
 11. *Polak SB, Van Gool IC, Cohen D, von der Thüsen JH, van Paassen J.* A systematic review of pathological findings in COVID-19: A pathophysiological timeline and possible mechanisms of disease progression. *Mod Pathol.* 2020;33(11):2128–38. DOI: 10.1038/s41379-020-0603-3.
 12. *Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Ye, Li X, Shan H.* Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology.* 2020;158(6): 1831–1833.e3. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.02.055.
 13. *Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J et al.* Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res.* 2020;220:1–13. DOI: 10.1016/j.trsl.2020.04.007.
 14. *Коган Е.А., Березовский Ю.С., Проценко Д.Д., Багдасарян Т.Р., Грецов Е.М., Демуря С.А. и др.* Патологическая анатомия инфекции, вызванной SARS-CoV-2. Судебная медицина. 2020;6(2):8–30. DOI: 10.19048/2411-8729-2020-6-2-8-30.
 - Kogan EA, Berezovsky YuS, Protsenko DD, Bagdasaryan TR, Gretsov EM, Demura SA et al.* Pathological anatomy of infection caused by SARS-CoV-2. *Russian Journal of Forensic Medicine.* 2020;6(2):8–30 (In Russ.). DOI: 10.19048/2411-8729-2020-6-2-8-30.
 15. *Liu Q, Shi Yu, Cai J, Duan Y, Wang R, Zhang H et al.* Pathological changes in the lungs and lymphatic organs of twelve COVID-19 autopsy cases. *Natl Sci Rev.* 2020;7(12):1868–78. DOI: 10.1093/nsr/nwaa247.
 16. *Duan YQ, Xia MH, Ren L, Zhang YF, Ao QL, Xu SP et al.* Deficiency of T cells and germinal center in deceased COVID-19 patients. *Curr Med Sci.* 2020;40(4):618–24. DOI: 10.1007/s11596-020-2225-x.
 17. *Авцын А.П., Пермяков Н.К., Казанцева И.А., Пархоменко О.Г.* Патологическая анатомия СПИДа (инфекции ВИЧ): Методические рекомендации. Москва, 1989. 18 с.
 - Avtsyn AP, Permyakov NK, Kazantseva IA, Parkhomenko OG.* Pathological anatomy of AIDS (HIV infection): Guidelines for doctors. Moscow, 1989. 18 p. (In Russ.).
 18. *Сомова Л.М., Антоненко Ф.Ф.* Псевдотуберкулез: клинико-морфологические аспекты. Москва: Наука, 2019. 327 с. DOI: 10.7868/9785020407664.
 - Somova LM, Antonenko FF.* Pseudotuberculosis: clinical and morphological aspects. Moscow: Nauka, 2019. 327 p. (In Russ.). DOI: 10.7868/9785020407664
 19. *Ковригина А.М., Шаламова Е.А., Березовский Ю.С., Калинин Д.В., Грецов Е.М., Багдасарян Т.З. и др.* Патоморфологическая и иммуногистохимическая характеристика изменений лимфатических узлов у умерших от COVID-19 по данным аутопсий. Клиническая и экспериментальная морфология. 2020;9(4):12–23. DOI: 10.31088/CEM2020.9.4.12-23.
 - Kovrigina AM, Shalamova EA, Berezovskiy YuS, Kalinin DV, Gretsov EM, Bagdasaryan TR et al.* Pathomorphological and immunohistochemical features of lymph nodes in COVID-19 patients (autopsy study). Clinical and experimental morphology. 2020;9(4):12–23 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.4.12-23.
 20. *Bian XW.* COVID-19 Pathology Team. Autopsy of COVID-19 patients in China. *Nat Sci Rev.* 2020;7(9):1414–18. DOI: 10.1093/nsr/nwaa123.
 21. *Elsoukkary SS, Mostyka M, Dillard A, Berman DR, Ma LX, Chadburn A et al.* Autopsy findings in 32 patients with COVID-19: A single-institution experience. *Pathobiology.* 2021;88(1):56–68. DOI: 10.1159/000511325.
 22. *Tabary M, Khanmohammadi Sh, Araghi F, Dadkhahfar S, Mohammad S, Tavangar SM.* Pathologic features of COVID-19: A concise review. *Pathol Res Pract.* 2020;216(9):153097. DOI: 10.1016/j.prp.2020.153097.
 23. *Cohen J.* The coronavirus may shut down the immune system's vital classrooms. *Science.* 2020. DOI: 10.1126/science.abe4968.
 24. *Chu H, Zhou J, Wong BH, Li C, Chan JF, Cheng ZS et al.* Middle East respiratory syndrome coronavirus efficiently infects human primary T lymphocytes and activates the extrinsic and intrinsic apoptosis pathways. *J Infect Dis.* 2016;213(6):904–14. DOI: 10.1093/infdis/jiv380.
 25. *Peiris JSM, Lai ST, Poon LM, Guan Y, Yam LY, Lim W et al.* Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003;361(9366):1319–25. DOI: 10.1016/s0140-6736(03)13077-2.
 26. *Lang Z, Zhang L, Zhang S, Meng X, Li J, Song C et al.* Pathological study on severe acute respiratory syndrome. *Chin Med J (Engl).* 2003;116(7):976–80. PMID: 12890365.

27. Ding YQ, Wang HJ, Shen H, Li ZG, Geng J, Han HX et al. Study on etiology and pathology of severe acute respiratory syndrome. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2003;32(3):195–200 (in Chinese). PMID: 12882680.
28. Reed H. Intelligent discussion on HIV vaccine serves as a small consolation for slow progress. *Yale J Biol Med*. 2011;84(2):153–4. PMID: 21698049.
29. Sekaly RP. The failed HIV Merck vaccine study: A step back or a launching point for future vaccine development? *J Exp Med*. 2008;205(1):7–12. DOI: 10.1084/jem.20072681.
30. Миронов А.Н., Супотницкий М.В., Лебединская Е.В. Феномен антителозависимого усиления инфекции у вакцинированных и переболевших. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2013;3(47):12–25.
Mironov AN, Supotnitskiy MV, Lebedinskaya EV. The phenomenon of antibody-dependent enhancement of infection in vaccinated and convalescents. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2013;3(47):12–25 (In Russ.).
31. Nakayama E, Tomabechi D, Matsuno K, Kishida N, Yoshida R, Feldmann H et al. Antibody-dependent enhancement of Marburg virus infection. *J Infect Dis*. 2011;204 Suppl 3(Suppl 3):S978–85. DOI: 10.1093/infdis/jir334.
32. Takada A, Feldmann H, Ksiazek TG, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J Virol*. 2003;77(13):7539–44. DOI: 10.1128/jvi.77.13.7539-7544.2003.
33. Flipse J, Wilschut J, Smit JM. Molecular mechanisms involved in antibody-dependent enhancement of dengue virus infection in humans. *Traffic*. 2013;14(9):25–35. DOI: 10.1111/tra.12012.
34. Hosie MJ, Osborne R, Reid G, Neil JC, Jarrett O. Enhancement after feline immunodeficiency virus vaccination. *Vet Immunol Immunopathol*. 1992;35(1–2):191–7. DOI: 10.1016/0165-2427(92)90131-9.
35. Takano T, Kawakami S, Yamada S, Satoh R, Hohdatsu T. Antibody-dependent enhancement occurs upon re-infection with the identical serotype virus in feline infectious peritonitis virus infection. *J Vet Med Sci*. 2008;70(12):1315–21. DOI: 10.1292/jvms.70.1315.
36. Vennema H, de Groot RJ, Harbour DA, Dalderup M, Gruffydd-Jones T, Horzinek MC et al. Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization. *J Virol*. 1990;64(3):1407–9. DOI: 10.1128/JVI.64.3.1407-1409.1990.
37. Vennema H, Poland A, Foley J, Pedersen NC. Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*. 1998;243(1):150–7. DOI: 10.1006/viro.1998.9045.
38. Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol*. 2020;5(10):1185–91. DOI: 10.1038/s41564-020-00789-5.

Информация об авторах

Лариса Михайловна Сомова – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Евгений Анатольевич Коцюрбий – кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины Тихоокеанского государственного медицинского университета.

Елена Игоревна Дробот – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Наталья Владимировна Крылова – доктор биологических наук, заведующая лабораторией респираторных вирусных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Ирина Николаевна Ляпун – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова.

Михаил Юрьевич Щелканов – доктор биологических наук, доцент, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, заведующий кафедрой эпидемиологии, микробиологии и паразитологии Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета, заведующий лабораторией вирусологии ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН.

Author information

Larisa M. Somova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Head of Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>

Evgeniy A. Kotsyurbiy – Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Pacific State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-4382-7046>

Elena I. Drobot – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0001-7672-1582>

Natalia V. Krylova – Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Respiratory Viral Infections, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0002-9048-6803>

Irina N. Lyapun – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.

<https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>

Mikhail Yu. Shchelkanov – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Director of G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology; Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Parasitology in the School of Biomedicine, Far Eastern Federal University; Head of the Laboratory of Virology, Federal Scientific Center of East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences.

<https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Морфологические особенности распределения компонентов экстрацеллюлярного матрикса – матриксной металлопротеиназы-9 и коллагена IV типа в метастазирующей меланоме хориоидеи

А.Ю. Шаманова^{1,2}, Е.Л. Казачков², И.Е. Панова³

¹ ГБУЗ Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины, Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Челябинск, Россия

³ Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* Ранняя диагностика и прогнозирование появления отдаленных метастазов меланомы хориоидеи (МХ) на основании морфологической и иммуногистохимической (ИГХ) оценки компонентов микроокружения опухоли являются актуальными проблемами современной онкологии. Цель исследования – оценить иммуногистохимическую экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 и коллагена IV типа в метастазирующей меланоме хориоидеи.

Материалы и методы. Проанализированы случаи МХ (n=43) T2(a,b,c)-3N0M0-1 за период с 2013 по 2017 год, сформировавшие группы исследования: 1-я – первичная МХ без отдаленных метастазов (n=25), 2-я – первичная МХ с отдаленными метастазами в печень (n=18). Выполнено ИГХ исследование материала с MMP-9 (Poly) (ММП-9), Collagen-IV (Clone CIV 22) (Col4). Оценены качественные, полуколичественные и количественные параметры в рамках цифровой патологии. Для МХ разработан полуколичественный метод оценки интенсивности экспрессии данных маркеров (в баллах).

Результаты. В исследование вошли 22 женщины (51,2%) и 21 мужчина (48,8%). Средний возраст пациентов составил 60,5 года. Толщина МХ в среднем 8,3 мм, средний диаметр опухоли 12,3 мм. При выраженном тканевом распаде опухоли, ее вертикальном размере, наличии инвазии в склеру клетки опухоли и компоненты ее микроокружения интенсивно экспрессируют ММП-9 и ремоделируют коллагеновый каркас. Более выраженная экспрессия ММП-9 была ассоциирована с повышенным содержанием в экстрацеллюлярном матриксе (ЭЦМ) разрозненных волокон коллагена IV типа в метастазирующих МХ.

Заключение. В ходе роста и прогрессирования МХ компоненты микроокружения и клетки опухоли оказывают взаимное влияние с дезорганизацией компонентов ЭЦМ. Показатели ИГХ экспрессии (ММП-9, Col4) в опухоли нецелесообразно рассматривать как диагностический маркер метастазирования МХ. Тем не менее они могут быть использованы в практической работе при мониторинге течения заболевания и для дальнейшего изучения механизмов ремоделирования микроокружения опухоли.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, матриксная металлопротеиназа-9, коллаген IV типа, метастаз

Для корреспонденции: Анна Юрьевна Шаманова. E-mail: anna-sha@bk.ru

Для цитирования: Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Панова И.Е. Морфологические особенности распределения компонентов экстрацеллюлярного матрикса – матриксной металлопротеиназы-9 и коллагена IV типа в метастазирующей меланоме хориоидеи. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):25–37. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.25-37.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 12.07.2022. Получена после рецензирования 27.07.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Morphological features of the distribution of extracellular matrix components: MMP-9 and type IV collagen in metastatic choroidal melanoma

A.Yu. Shamanova^{1,2}, E.L. Kazachkov², I.E. Panova³

¹ Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine, Chelyabinsk, Russia

² South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

³ S.N. Fedorov National Medical Research Center "Inter-Sectoral Research and Technical Complex "Eye microsurgery"", St. Petersburg Branch, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Introduction. Early diagnosis and prediction of distant metastases in choroidal melanoma patients based on morphological and IHC assessment of the components of the tumor microenvironment is a topical issue. The aim was to evaluate the IHC expression of MMP-9 and type IV collagen in metastatic choroidal melanoma.

Materials and methods. We analyzed 43 cases of choroidal melanoma T2(a,b,c)-3N0M0-1 during 2013–2017. The patients were divided into two groups: group 1 included patients with primary choroidal melanoma without distant metastases (N=25) and group 2 included patients with primary choroidal melanoma with distant liver metastases (N=18). We performed an IHC assay of the surgical samples with MMP-9 (Poly) (MMP-9) and Collagen-IV (Clone CIV 22) (Col4) antibodies. Qualitative, semi-quantitative, and quantitative parameters were evaluated with digital pathology software. We developed a semi-quantitative method for estimating the intensity of IHC expression of these markers (in scores) in choroidal melanoma.

Results. The study included 22 female and 21 male patients (51.2% and 48.8%, respectively), the average age being 60.5 years. The thickness of choroidal melanoma averaged 8.3 mm; the average diameter of the tumor was 12.3 mm. We detected strong MMP-9 expression in tumor cells and their microenvironment and remodeled collagen framework in tumors with pronounced tumor necrosis, thickness, and scleral involvement. A more pronounced expression of MMP-9 was associated with an increase in isolated type IV collagen fibers in the extracellular matrix (ECM) of the metastatic choroidal melanoma.

Conclusion. During the growth and progression of choroidal melanoma, the components of the microenvironment and tumor cells have a mutual effect with the disorganization of ECM components. Indicators of IHC expression (MMP-9, Col4) in a tumor should not be considered as a diagnostic marker of metastatic choroidal melanoma. However, they can be used in clinical practice when monitoring the course of the disease and in studying the mechanisms of remodeling of the tumor microenvironment.

Keywords: choroidal melanoma, MMP-9, type IV collagen, metastasis

Corresponding author: Anna Yu. Shamanova. E-mail: anna-sha@bk.ru

For citation: Shamanova A.Yu., Kazachkov E.L., Panova I.E. Morphological features of the distribution of extracellular matrix components: MMP-9 and type IV collagen in metastatic choroidal melanoma. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):25–37 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.25-37.

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

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

Received 12.07.2022. **Received in revised form** 27.07.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Ранняя диагностика и прогнозирование появления отдаленных метастазов меланомы хориоидеи (МХ) являются актуальными задачами современной онкоофтальмологии и офтальмопатогистологии. Это объясняется тем, что, по данным ряда авторов, 30–60% случаев МХ в течение 10 лет ассоциировано с отдаленными метастазами вне зависимости от вида проведенного лечения [1]. Особенно перспективен поиск морфологических и иммуногистохимических прогностических маркеров метастазирования МХ уже на этапе прижизненного патологоанатомического исследования операционного материала энуклеированных глаз с опухолью. Наряду с известными клинико-мор-

фологическими и молекулярно-генетическими факторами неблагоприятного прогноза МХ в последние годы активно обсуждается роль в опухолевой прогрессии компонентов микроокружения новообразования, рассматриваемая в контексте оказываемого им влияния в качестве информационной клеточной среды [2].

Еще в 1852 году А. Келликер дал одно из первых определений понятию «ткань» как комплексу элементарных составных частей, объединенных в одно морфологическое и физиологическое целое [2–3]. К основным тканевым элементам относят клетки, межклеточное вещество (экстрацеллюлярный матрикс, ЭЦМ) и симпласты. Опухоль как субстрат патологиче-

ского процесса, характеризующегося безудержным бесконтрольным ростом, представляет своей массой не что иное как определенное сочетание тканевых элементов. Так, в доброкачественных новообразованиях выражен тканевой морфологический атипизм (отклонение от нормы) – нарушение соотношения паренхимы и стромы в сторону преобладания последней, с изменением величины и формы тканевых структур, тогда как для злокачественных новообразований (ЗНО) свойствен клеточный атипизм – полиморфизм клеток и ядер, увеличение ядерно-цитоплазматического индекса, количества митозов и прочее [4].

Важной особенностью любого ЗНО является нарушение взаимоотношений между опухолевыми клетками и его микроокружением. К последнему относятся как сопутствующий клеточный инфильтрат (лимфоциты, макрофаги, фибробласты, тучные клетки и т.д.), так и компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) – волокна (коллагеновые, эластические, ретикулярные) и основное вещество ткани.

Вместе с тем установлено, что важную роль в процессах роста и метастазирования любого ЗНО играют матриксные металлопротеиназы (ММП), которые способны участвовать в ремоделировании ЭЦМ посредством дезорганизации белков. Изменения в самом ЭЦМ могут оказывать влияние на способность опухолевых клеток к миграции, пролиферации, дифференцировке, а также своей антигенной презентации. Ремоделирование внеклеточного каркаса в ходе роста опухоли может быть объяснено процессами механосенситивности и механотрансдукции. Механосенситивность – это способность клеток воспринимать физические сигналы и механические силы из своего окружения. Механотрансдукция – процессы преобразования механических стимулов во внутриклеточный биохимический ответ, который может играть роль в патогенезе опухолевого процесса [5].

Таким образом, клетки опухоли и клеточно-стромальное окружение взаимно воздействуют друг на друга, а описание морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) особенностей проявления нарушений тканевого гомеостаза и взаимодействия между опухолевой клеткой и ее микроокружением, формирующим премеагастатическую нишу для опухолевых клеток, может дать объяснение и возможность прогнозирования основных свойств ЗНО, таких как инвазия, метастазирование и его автономный рост (независимый от регуляторных механизмов организма).

Цель исследования – оценить иммуногистохимическую экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 и коллагена IV типа в метастазирующей меланоме хориоидеи.

Материалы и методы

Исследован операционный материал (энуклеированные глаза) от 43 пациентов с МХ за период с 2013 по 2017 год, проходивших лечение в Челябинском област-

ном клиническом центре онкологии и ядерной медицины. В выборку вошли все случаи, соответствующие критериями включения: проведенное хирургическое лечение (энуклеация глазного яблока); верификация МХ; поражение опухолью структур заднего отрезка глаза без перехода на иридоцилиарную зону; беспигментная или крайне слабо пигментированная опухоль при оценке микропрепарата в световой микроскоп; наличие тканевого материала отдаленных гистологически верифицированных метастазов; информированное согласие пациента на проведение исследования операционного материала. В исследование не вошли случаи на основании критериев исключения: лучевое лечение МХ в анамнезе; опухоль в состоянии терапевтического патоморфоза; пигментированная опухоль при оценке микропрепарата в световой микроскоп (от умеренно до выражено пигментированной); наличие ЗНО иных локализаций в анамнезе. Прицельный отбор случаев МХ с минимальным или отсутствующим пигментом обоснован стремлением минимизировать ложноположительные результаты ИГХ исследования экспрессии маркеров. В дальнейшем из выборки были сформированы группы исследования: случаи МХ без метастазов (первичные очаги) и с отдаленными метастазами (как первичные, так и вторичные очаги ЗНО). Тканевые фрагменты метастатических очагов получены посредством их трепан-биопсии.

В ходе прижизненного патологоанатомического исследования операционного материала МХ ретроспективно проанализированы микропрепараты при окрашивании гематоксилином и эозином. Проведено уточнение гистологического варианта опухоли в соответствии с классификацией опухолей глаза Всемирной организации здравоохранения 2018 года [6], соотношения эпителиоидного и веретенноклеточного компонентов, а также параметров внутриорганного распространения опухоли (инвазии в склеру и сетчатку, наличие опухолевых эмболов, прорастание в структуры передней камеры глаза). Далее по общепринятой методике [7] с парафиновых блоков каждого исследуемого случая МХ выполнено ИГХ исследование с использованием поликлонального антитела MMP-9 (Poly) (Diagnostic BioSystems, США) и антитела к Collagen-IV (Clone CIV 22) (Dako, Дания). Анализ микропрепаратов проводили при световой микроскопии с использованием микроскопа Nikon (Токио Воэки, Япония) с оценкой области опухоли на 10 полей зрения при увеличении микроскопа $\times 400$ (диаметр поля зрения 0,65 мм). В последующем все микропрепараты были отсканированы с помощью гистосканера Pannoramic Diagnostic Scanner (3DHISTECH, Венгрия). Далее проанализирована информационная среда цифровых изображений микропрепаратов посредством прикладных компьютерных программ [8]. Программное обеспечение использовалось для полуколичественной (в баллах) и количественной оценки исследуемых ИГХ параметров (экспрессия MMP-9, Collagen-IV). Результаты

анализа оцифрованных изображений получены на основе автоматизированного программного компьютерного измерения экспрессии маркеров в заданных полях зрения тканевых фрагментов. Применялся инструмент анализа изображений Quant Center 2.0 (3DHISTECH) (с использованием модуля Cell Quant) (3DHISTECH, Венгрия), основанный на компьютерном алгоритме количественной оценки областей, задаваемых исследователем в ручном режиме (рис. 1).

Для МХ разработан полуколичественный метод оценки интенсивности экспрессии ММП-9 и Col4 (в баллах). Статистическая обработка результатов исследования проводилась в программе IBM SPSS Statistics (IBM, США). В качестве показателей описательной статистики рассчитывали медиану и квартили. Использовали методы непараметрической статистики. При сравнении двух групп исследования применяли критерий Манна–Уитни. С целью определения взаимосвязи показателей рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты

В ходе исследования выборки МХ (N=43) 1-ю группу составили случаи первичной МХ без отдаленных метастазов (N=25), 2-ю группу – первичной МХ с отдаленными метастазами в печень (N=18). Во 2-й группе исследования только в 10 случаях были доступны микропрепараты (парафиновые блоки) с тканевым материалом опухоли из вторичных очагов (метастазы МХ

в печень). В последующем во 2-й группе исследования проведен подгрупповой анализ первичных очагов МХ с метастатическими очагами этих же опухолей (n=10). Согласно международной классификации TNM, случаи МХ соответствовали T2(a,b,c) N0M0-1. Толщина МХ составляла от 7 до 15 мм, в среднем 8,3 мм, максимальный диаметр от 7,2 до 20 мм, в среднем 12,3 мм. Гистологический вариант исследованных МХ: веретенноклеточные МХ (n=13), эпителиоидноклеточные (n=13), смешанноклеточные (n=17).

Возраст пациентов в исследуемых группах составил от 41 года до 83 лет (средний возраст – 60,5 года). Женщин было 22 (51,2%), мужчин – 21 (48,8%). Медиана времени до появления метастазов составила 36 месяцев (15; 42).

Проведено ИГХ исследование с антителами к ММП-9 (Poly) и Collagen-IV. Участки микропрепарата, содержащие иммунопозитивный компонент с окрашиванием хромогеном в коричневый цвет и его оттенки, отражали экспрессию ММП-9 (при проведении реакции с антителами к ММП-9 (Poly)), коллаген IV типа (Col4) (с антителами к Collagen-IV), а иммунонегативные зоны с окрашиванием в сине-фиолетовый и оттенки синего или серого цветов. Для более достоверного качественного (визуального) определения ИГХ экспрессии ММП-9 в ткани опухоли глаза использовали программу QuPath-0.3.0 (при помощи инструмента Show channel viewer), позволяющего послойно разделить в исходном оцифрованном изображении микро-

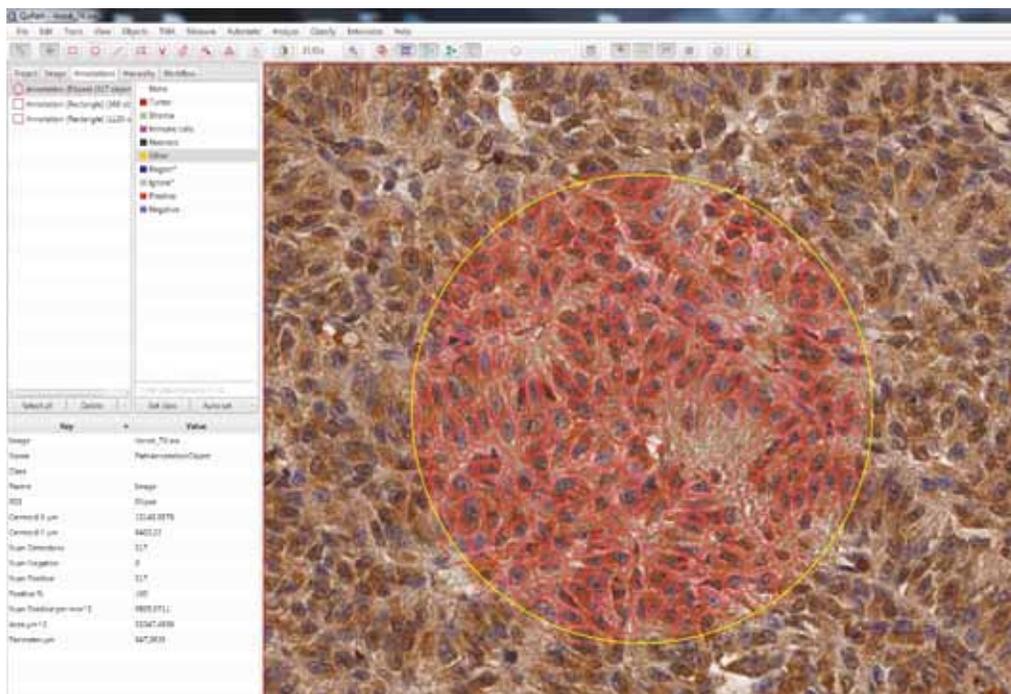


Рис. 1. Оцифрованный микропрепарат меланомы хориоидеи с выделенной областью для автоматизированной оценки экспрессии маркера ММП-9 (Poly) в опухоли с применением инструмента анализа изображений: программа QuPath-0.3.0, Quant Center 2.0 (3DHISTECH) (модуль Cell Quant), $\times 200$

Fig. 1. Digitized slide of choroidal melanoma with a selected area for automated evaluation of the MMP-9 (Poly) expression in the tumor using an image analysis tool: QuPath-0.3.0 program, Quant Center 2.0 (3DHISTECH) (Cell Quant module), $\times 200$

препарата окрашивание хромогеном (коричневый цвет) от ядерного окрашивания гематоксилином (рис. 2).

На основании анализа цифровой патологии (информационной среды оцифрованных изображений) нами разработан и проведен полуколичественный метод оценки (в баллах) экспрессии ММП-9 и Col4 в клетках опухоли и компонентах ее микроокружения.

В группах исследования нами установлены различия в экспрессии ММП-9 как по уровню интенсивности (от слабой до интенсивной), так и по локализации экспрессии (в клетках опухоли, в компонентах ее микроокружения, в клетках нормальной ткани глаза). Было обнаружено увеличение уровня экспрессии ММП-9 и ее интенсивности при выраженном тканевом

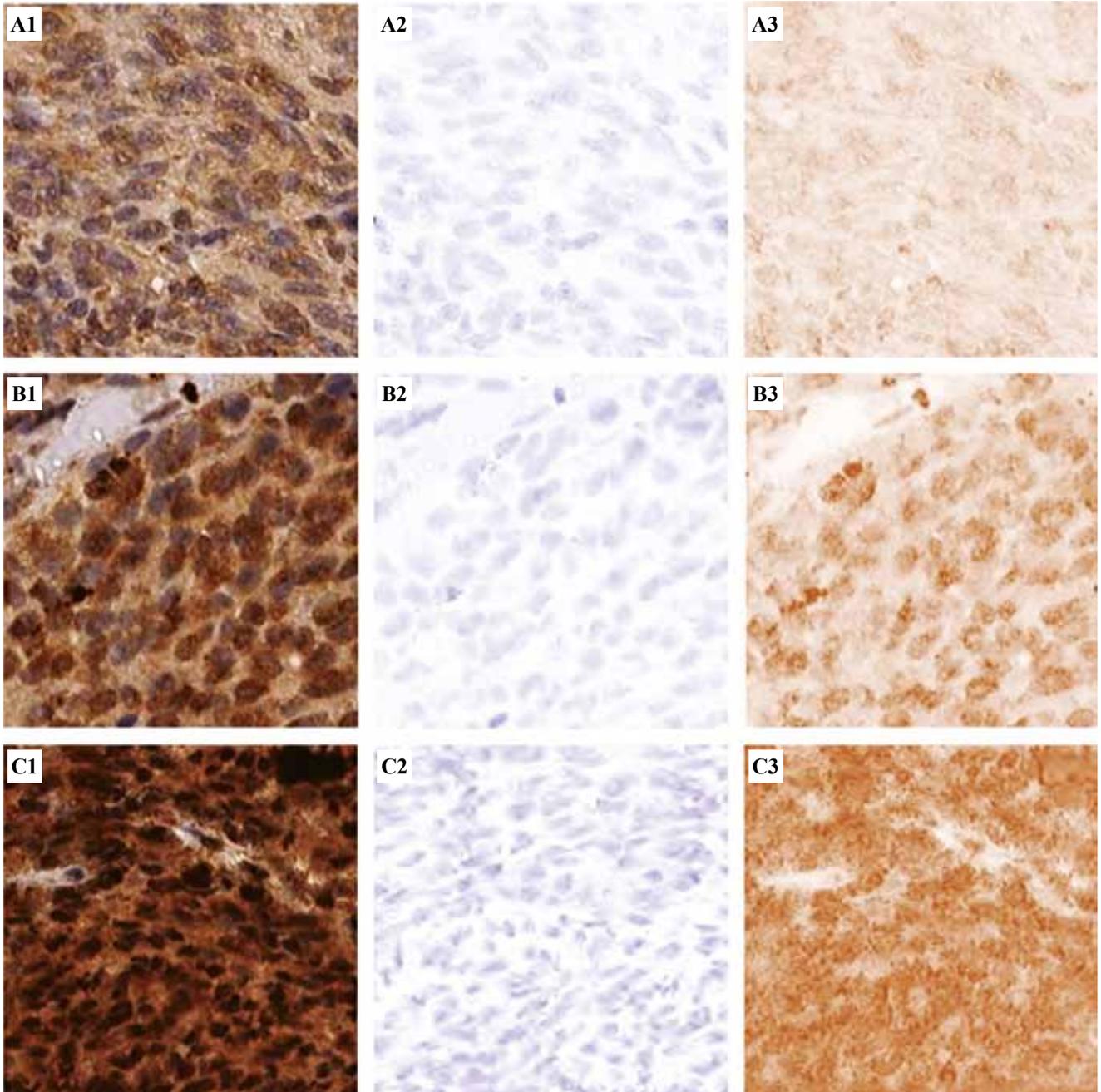


Рис. 2. Оцифрованные микропрепараты меланомы хориоидеи с экспрессией ММП-9 в опухоли трех случаев МХ (сектор А–С) с послойным разделением оцифрованных изображений (секторы А1–А2, В1–В2, С1–С2): где А, В, С – оцифрованные микропрепараты после ИГХ реакции с ММП-9 (Poly); А1, В1, С1 – отдельные изображения в окрашивании препарата только гематоксилином; А2, В2, С2 – отдельные изображения в окрашивании препарата только хромогеном, $\times 200$

Fig. 2. Digitized slides of choroidal melanoma with MMP-9 expression in tumors of three cases of choroidal melanoma (sector A–C) with layered separation of digitized images (sectors A1–A2, B1–B2, C1–C2): A, B, C – digitized slides after IHC assay with MMP-9 (Poly); A1, B1, C1 – separate images showing only hematoxylin staining; A2, B2, C2 – separate images showing only chromogen staining, $\times 200$

распаде, большом вертикальном размере опухоли (более 8 мм), инвазии опухолевых клеток в склеру. Во 2-й группе исследования случаев МХ с метастазами ММП-9 экспрессировалась преимущественно перинуклеарно в цитоплазме опухолевых клеток и более интенсивно, чем в 1-й группе исследования. Во всех случаях иммунореактивные участки были обнаружены как в опухолевых клетках, так и в компонентах стромы и микроокружения (в фибробластах), а также в компонентах нормальной ткани глаза (в сетчатке, радужной оболочке, хориоиде) (рис. 3).

В ходе полуколичественной оценки экспрессии ММП-9 на оцифрованных изображениях (рис. 2) оценивали процент интенсивно окрашенных клеток опухоли и градиент окрашивания (слабое, умеренное и интенсивное окрашивание хромогеном). Так, отсутствие иммунореактивности обозначали 0 баллов, диффузное слабое окрашивание хромогеном в цитоплазме опухолевых клеток с умеренным окрашиванием единичных клеток (до 24%) оценивали как слабую ИГХ реактивность – 1 балл (рис. 2 А2), умеренную диффузную цитоплазматическую экспрессию антигена в опухоли с интенсивной экспрессией в небольших группах клеток

(25–50%) оценивали как среднюю – 2 балла (рис. 2 В2), интенсивное окрашивание большей части опухолевых клеток более 51% отмечали как 3 балла (рис. 2 С2). Экспрессию ММП-9 в клеточном окружении и нормальных структурах глаза оценивали по локализации и интенсивности окрашивания, где 0 – нет экспрессии маркера, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – интенсивная, 4 – выражено интенсивная экспрессия маркера.

ИГХ экспрессию Col4 оценивали также на основании послойного разделения оцифрованных изображений. Оценку маркера в норме проводили в стенках сосудов (рис. 4А). Наличие и объемную плотность разрозненных волокон Col4 в ЭЦМ опухоли оценивали полуколичественным и количественным методом. Полуколичественная оценка Col4 в ЭЦМ: отсутствие в строме опухоли волокон Col4 – 0 баллов, наличие единичных слабоокрашенных волокноподобных участков – 1 балл (рис. 4 В), выявление в ЭЦМ очагов с окрашенными волокнами Col4 – 2 балла (рис. 4 В1); диффузные разрозненные в ЭЦМ волокна Col4 – 3 балла (рис. 4 В2). Количественный анализ представительства разрозненных волокон Col4 проводили с использованием прикладных компьютерных

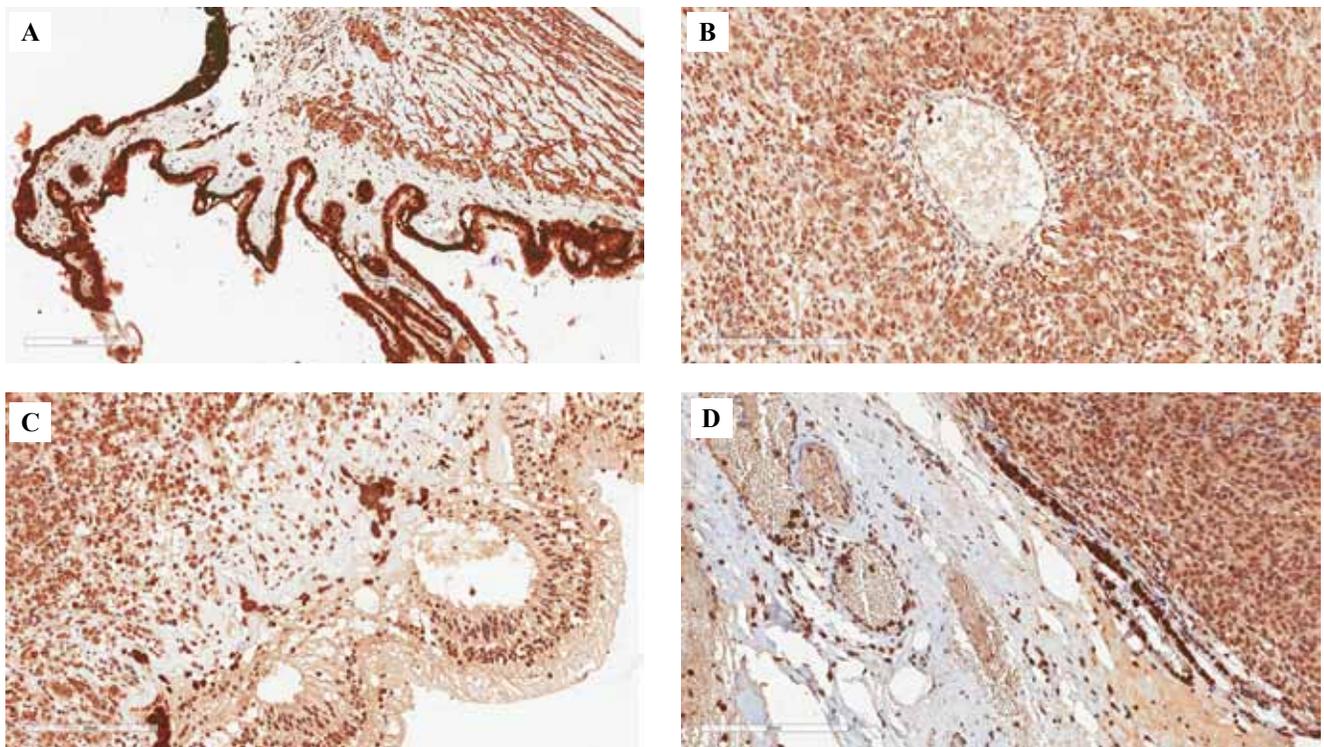


Рис. 3. Иммуногистохимическая экспрессия матриксной металлопротеиназы-9 преимущественно в цитоплазме клеток, $\times 200$.

А – в клеточно-стромальных структурах цилиарного тела глазного яблока; В – в эндотелии кровеносного интрамурального сосуда, слабая экспрессия лимфоцитами периваскулярного инфильтрата, умеренная и интенсивная экспрессия в опухолевых клетках; С – в структурах сетчатки; D – клетками соединительной ткани в склере, в ветви вортексной вены и интраваскулярных лимфоцитах

Fig. 3. IHC expression of MMP-9 predominantly in the cytoplasm, $\times 200$.

A – in the cell-stromal structures of the ciliary body of the eyeball; B – in the endothelium of the intratumoral blood vessel, weak expression in lymphocyte perivascular infiltrate, moderate and intense expression in the tumor cells; C – in the structures of the retina; D – connective tissue cells in the sclera, branches of the vortex vein and intravascular lymphocytes

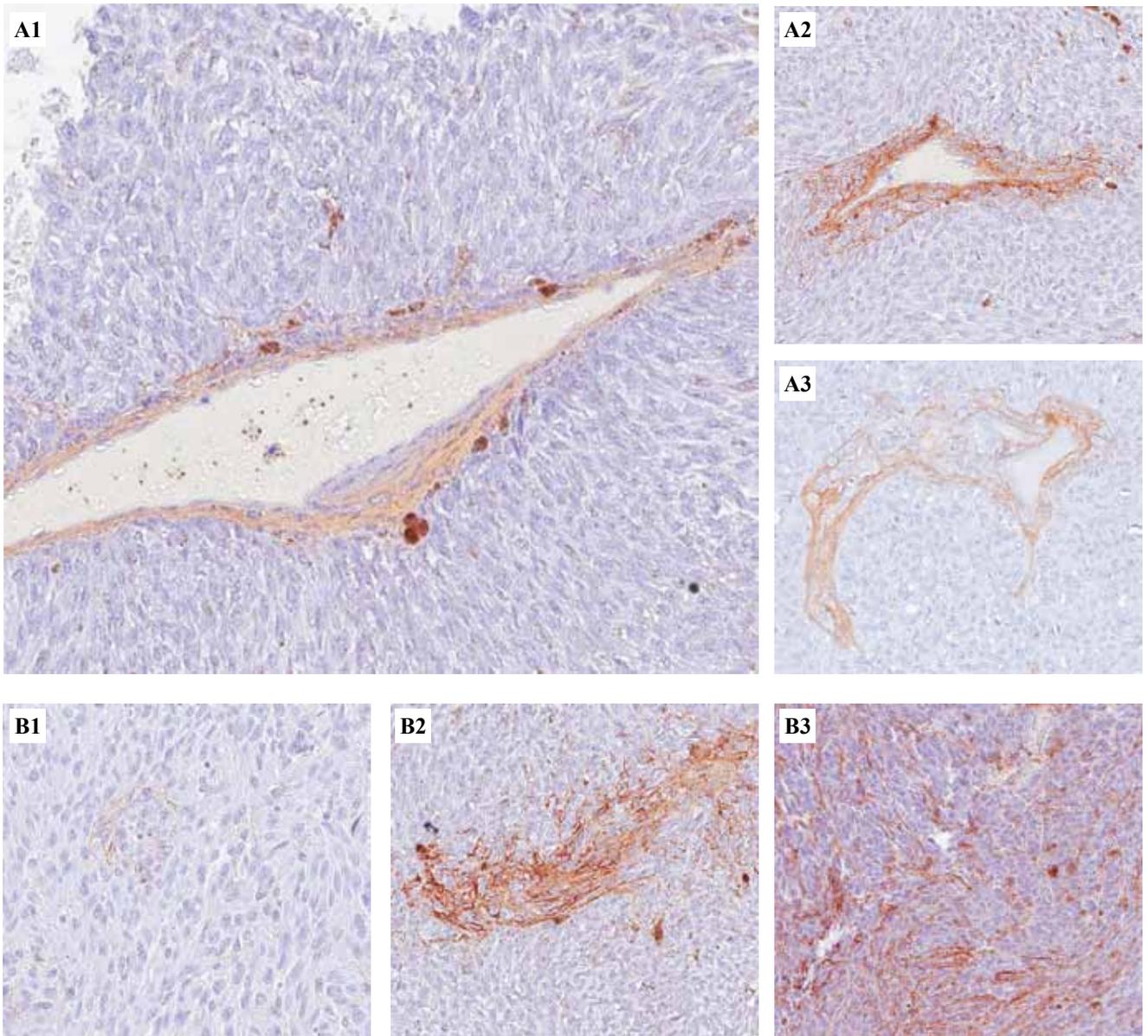


Рис. 4. Иммуногистохимическая экспрессия коллагена IV типа в сосудах опухоли (А–А2) и в ее экстрацеллюлярном матриксе (ЭЦМ) (В–В2), $\times 200$.

А1, А2 – расслоение волокон коллагена IV типа в стенке кровеносного сосуда за счет интравасциации опухолевых клеток (инвазии в стенку сосудов); В, В1, В2 – различное содержание в ЭЦМ разрозненных дезорганизованных волокон коллагена IV типа

Fig. 4. IHC expression of type IV collagen in tumor vessels (А–А2) and in their ECM (В–В2), $\times 200$.

А1, А2 – stratification of fibers of type IV collagen in the blood vessel wall due to intravasation of tumor cells (invasion into the vessel wall); В, В1, В2 – different content of scattered disorganized fibers of type IV collagen in ECM

программ с оценкой объемной плотности структур, экспрессирующих Col4.

В ходе анализа нами установлено, что ММП-9 экспрессируется в 100% образцов клетками опухоли (2–3 балла), компонентами ее клеточного и стромального микроокружения с интенсивностью от умеренной до выраженной (2–3 балла), а также компонентами нормальной ткани глаза (сетчатка, хориоидея) преимущественно умеренной интенсивности (1–3 балла) (табл.). При этом отмечено, что интенсивность экспрес-

сии ММП-9 снижалась в компонентах микроокружения МХ преимущественно в области ее «верхушки», граничащей с сетчаткой. Интенсивность экспрессии ММП-9 не была ассоциирована с клиническими характеристиками болезни. Тем не менее нами отмечено увеличение уровня экспрессии ММП-9 в опухолях с выраженным тканевым распадом, большим вертикальным размером, а также при инвазии в склеру. Кроме того, установлено, что экспрессия ММП-9 в клетках новообразования во всех образцах положительно коррелирует

Оценка интенсивности иммуногистохимической экспрессии MMP-9 и Col4 в МХ 1-й и 2-й групп исследования |
Assessment of the intensity of IHC expression of MMP-9 and Col4 in choroidal melanoma of study groups 1 and 2

Меланома хориоидеи Choroidal melanoma	ИГХ исследование IHC		
	MMP-9 (баллы), Me (Q) MMP-9 (scores), Me (Q)		разрозненные волокна Col4 (объемная плотность), Me (Q) scattered Col4 fibers (density), Me (Q)
	в клетках опухоли in tumor cells	в окружении in the microenvironment	
1 ГИ МХ Group 1 choroidal melanoma (n=25)	2 (1; 3)	2 (1; 2)	0,4 (0,2 ;1,2)
2 ГИ МХ Group 2 choroidal melanoma (n=18)	3 (2; 3)	1 (1; 2)	1,8 (1,0; 2,4)
	p=0,08	p=0,1	p=0,034*
подгруппа (метастатические очаги МХ в печени) subgroup (metastases of choroidal melanoma in the liver) (n=10)	2 (2; 3)	2 (2; 3)	0,3 (0,1; 1,0)
Инвазия в склеру обнаружена/отсутствует: 1 ГИ: n=13/n=12; 2 ГИ: n=9/n=9 Invasion of the sclera detected/absent: group 1: n=13/n=12; group 2: n=9/n=9			
1 ГИ МХ Group 2 choroidal melanoma	2 (2; 3)/2 (1; 2), p=0,07	1 (0; 2)/1 (1; 2), p=0,4	0,7 (0,2; 1,2)/0,3 (0,2; 1,2), p=0,4
2 ГИ МХ Group 2 choroidal melanoma	3 (2; 3)/2 (2; 3), p=0,004*	1 (1; 2)/1(1; 2), p=0,08	2,2 (1,0; 2,4)/1,4 (1,0; 2,4), p=0,003*
Некроз в опухоли обнаружен/отсутствует: 1 ГИ: n=9/n=16; 2 ГИ: n=5/n=13 Necrosis in the tumor is detected/absent: group 1: n=9/n=16; group 2: n=5/n=13			
1 ГИ МХ group 1 choroidal melanoma	2 (2; 3)/2 (1; 2), p=0,08	1 (0; 2)/1 (1; 2), p=0,07	0,6 (0,2; 1,2)/0,5 (0,2; 1,2), p=0,62
2 ГИ МХ group 2 choroidal melanoma	3 (2;3)/2 (2;3), p=0,032*	1 (1;2)/1 (1;2), p=0,06	2,1 (1,0; 2,4)/1,3 (1,0; 2,4), p=0,0023*
Толщина опухоли, мм Tumor thickness, mm			
7–8	2 (1; 2)	1 (1; 2)	0,5 (0,2; 2,4)
9–10	2 (1; 2)	1 (1; 2)	1,0 (0,2; 2,4)
11–12	3 (2; 3)	2 (1; 2)	1,3 (0,2; 2,4), p=0,023*

* – статистически значимые различия | statistically significant differences

ГИ – группа исследования, MMP-9 – матриксная металлопротеиназа-9, МХ – меланома хориоидеи, Col4 – коллаген 4-го типа

с содержанием данного маркера в лимфоцитах и макрофагах опухолевого микроокружения (коэффициент Спирмена, $r=0,401$; $p=0,003$).

При этом статистически значимая зависимость уровня экспрессии исследованного маркера с показателями внутриорганной распространенности опухоли и гистологическим типом ее строения не обнаружена.

Обсуждение

В отношении МХ показано, что моносомия хромосомы 3 [9] и инактивирующие мутации *VAP I* [10]

в 50% случаев увеличивают прометастатическое поведение клеток МХ и рассматриваются как неблагоприятные прогностические показатели метастазирования опухоли. Несмотря на это, главные механизмы метастазирования МХ остаются неизвестными, и как следствие отсутствуют эффективные методы лечения метастатической болезни [11].

Наряду с этим несомненным остается понимание того, что ЗНО прогрессирует в динамически изменяющемся ЭЦМ. Он представляет собой внеклеточный каркас ткани и посредством биохимических и биомеха-

нических сигналов оказывает воздействие на рост, миграцию, дифференцировку клеток образования, а также неоангиогенез и иммунный ответ в опухоли. Так, на примере эпителиальных ЗНО M.W. Pickup et al. показали, что такие биохимические и биомеханические сигналы инициируются в ходе дезорганизации ЭЦМ, способствующей росту, прогрессированию и метастазированию ЗНО [12].

M.W. Pickup et al. обнаружили, что для большинства ЗНО характерны десмопластические изменения в ткани, которые характеризуются хроническим воспалением, преобладанием активных фибробластов, повышенным ангиогенезом и реконструкцией белков ЭЦМ [12]. В эксперименте *in vivo* на мышах K.R. Levental et al. установили причинно-следственную связь между десмопластическими изменениями в ЭЦМ и злокачественной трансформацией (малигнизацией) в пренеопластической ткани [13]. Известно, что развитие инвазивной карциномы из предраковой патологии (например, карциномы *in situ*) проходит определенные этапы, каждый из которых связан с разными структурно-организационными и биомеханическими изменениями ЭЦМ. Так, на примере молочной железы продемонстрировано, что при карциноме *in situ* свой инвазивный рост опухолевые клетки начинают с реконструкции базальной мембраны и выхода за ее пределы в окружающую ткань. При этом происходит истончение базальной мембраны с потерей в ее составе белков (ламелина), а также

увеличение количества интерстициального коллагена вокруг очага [14].

После инвазии (вторжения атипичных клеток за пределы базальной мембраны в окружающую ткань) дезорганизованный ЭЦМ способствует метастазированию опухолевых клеток. Как показано Y.A. Miroshnikova et al., «жесткий» каркас ЭЦМ из пучков коллагена I типа и фибронектина способствует направленной миграции клеток ЗНО [15]. Затем происходят интравазация атипичных клеток и миграция их с током крови с последующей экстравазацией и формированием вторичных очагов опухоли. Состояние ЭЦМ будет влиять на судьбу мигрировавшей атипичной клетки: гибель посредством апоптоза, «спящее состояние» дормантной клетки или активное размножение с формированием метастатического очага опухоли [16].

В отношении МХ процессы ее метастазирования аналогично связаны с состоянием микроокружения опухоли как в первичном очаге, так и во вторичном (рис. 5).

ММП – семейство цинксодержащих эндопептидаз, которые способны регулировать биологическое поведение новообразования – апоптоз, пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток, а также индуцировать неоангиогенез за счет высвобождения активной формы фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) [17–19]. Отмечено участие ММП-9 (желатиназа В) в аутокринной регуляции апоптоза

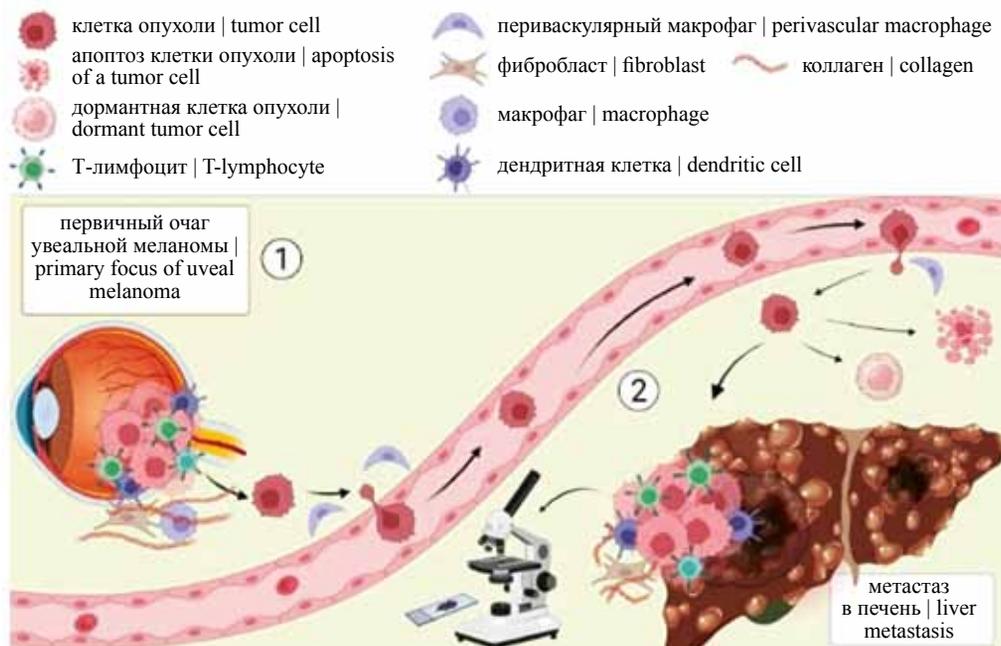


Рис. 5. Схема гематогенного метастазирования клеток увеальной меланомы в печень, где 1 – первичный очаг опухоли в глазном яблоке; 2 – печень с метастазом опухоли. На схеме отражены некоторые клеточно-стромальные компоненты микроокружения опухоли, принимающие участие в росте и прогрессировании увеальной меланомы.

Рисунок сформирован с использованием программы BioRender

Fig. 5. Schematic representation of hematogenous metastases of uveal melanoma cells to the liver, where 1 is the primary tumor focus in the eyeball; 2 is the liver with tumor metastases. The diagram shows some cellular-stromal components of the tumor microenvironment involved in the growth and progression of uveal melanoma. The drawing is created with BioRender

и клеточной пролиферации. Кроме того, ММП-9 активно участвует в разрушении коллагена базальных мембран и его денатурации, что является одним из механизмов ангиоинвазии опухоли.

Показано, что к повышению уровня ММП-9 приводит активность сигнального пути «фактор роста гепатоцитов/мезенхимально-эпителиального перехода» (hepatocyte growth factor, HGF/mesenchymal-epithelial transition factor, MET) [20]. Все это ведет к опосредованной стимуляции пролиферации, ангиогенеза и метастазирования опухоли [20]. Активация данного сигнального пути является одним из механизмов в развитии резистентности опухоли к химиотерапии [20].

Зарубежными исследователями показано, что опухолевые клетки увеальной меланомы и в первичных, и в метастатических очагах окружены фибронектином, коллагеном IV типа, ламинином. Также в эксперименте *in vitro* M. Bérubé et al. показано, что перечисленные белки формируют благоприятную среду для опухолевых клеток, делая их более устойчивыми в том числе к воздействию химиопрепарата (цисплатин) [21].

М.А. Чернявская и соавт. выявили взаимосвязь концентрации ММП-9 в слезной и внутриглазной жидкости при МХ и сделали вывод о возможности их исследования для оценки интенсивности локальных процессов пролиферации у пациентов с МХ [22]. Это косвенно подтверждает результаты нашего исследования, отражающие более агрессивное течение патологического процесса с преобладанием ИГХ экспрессии ММП-9 в более крупных, васкуляризованных, инвазирующих склеру увеальных меланом.

S. Zheng et al. отметили роль оценки ИГХ экспрессии ММП-9 в прогнозе немелкоклеточного рака легкого [23]. В ряде работ продемонстрировано снижение безрецидивной выживаемости у пациентов с раком толстой кишки при повышенной экспрессии ММП-9 [24–25], тогда как в раке мочевого пузыря экспрессия ММП-9 более чем в 25% клеток была рассмотрена как прогностический критерий высокой общей выживаемости (68%) и безрецидивной 5-летней выживаемости (36%) [26]. В опухолях с низкой экспрессией ММП-9 или при ее отсутствии общая выживаемость и безрецидивная 5-летняя выживаемость были меньше и составляли 48% и 19%, соответственно [26]. В меланоме кожи экспрессия ММП-9, по данным некоторых публикаций, не имела прогностического значения [27].

Несмотря на то, что ММП-9 определяется в структурах глаза при норме и патологии, Y. El-Shabrawi et al. в своей работе по исследованию экспрессии ММП-9 в увеальной меланоме показали, что ММП-9 экспрессировалась преимущественно в эпителиоидных (71,4% случаев) и эпителиоидном компоненте смешанно-клеточных увеальных меланом (67%) и в меньшем количестве в веретенчатом компоненте опухоли (10%) [28]. При этом показатели выживаемости для ММП-9 экспрессирующих меланом составили 27% против 85% случаев без экспрессии ММП-9 [28].

В ходе нашего исследования не были получены статистически значимые корреляционные связи уровня экспрессии ММП-9 в зависимости от гистологического варианта опухоли.

Тем не менее до сих пор остается мало изученной клинико-патогенетическая значимость характера экспрессии ММП-9 при метастазирующих МХ.

Полезным является исследование состава ЭЦМ и особенностей распределения его основных структурных компонентов. Коллаген IV типа (Col4) в норме обнаруживается в базальных мембранах сосудов. Нарушение архитектоники в опухоли в ходе взаимодействия атипичных клеток и микроокружения может приводить к структурному повреждению Col4. Эти процессы делают возможным проявление метастатического потенциала ЗНО.

Базальные мембраны (БМ) представляют собой плоские биологические матрицы, разделяющие тканевые компартменты в организме. Считается, что их своеобразная «листовидная» или «пластинчатая» структура является результатом ассоциации двух независимых белковых сетей – ламинина и Col4 [29]. В эксперименте показано, что ламинин индуцирует процессы сборки Col4, который наряду с фибронектином, ламинином, коллагеном I типа входит в состав стенок PAS-позитивных паттернов, сформированных в ходе васкулярной мимикрии. Коллаген I типа обнаруживается фокально и лишь в некоторых ШИК-позитивных паттернах васкулярной мимикрии, может синтезироваться опухолевыми клетками независимо от стромального ответа [30].

С целью регистрации наличия этих паттернов васкулярной мимикрии A. Thies et al. рекомендовали использовать более простое гистохимическое ШИК-окрашивание [31].

С помощью количественной ПЦР в реальном времени некоторыми авторами было показано, что клетки меланомы, склонной к метастазированию, больше продуцируют ламинин [32] и коллаген IV типа [33], а также фибронектин [32–33]. Описанные белки ЭЦМ (Col4, фибронектин) могут быть компонентами в ШИК-позитивных паттернах, сформированных при васкулярной мимикрии.

Показано, что гистогенез стромы МХ сложен и может состоять из множества паттернов, матрикс которых генерируется опухолевыми клетками в ходе процесса «васкулярной мимикрии» [30]. Утолщенные фиброваскулярные перегородки, сформированные в процессе местной реакции стромы, выявляются в меньшем количестве [30]. Они могут быть отдифференцированы от внесосудистых матричных паттернов васкулярной мимикрии на основе толщины и содержания ламинина, а также с помощью иммуногистохимии [30].

Заключение

Протеолитические ферменты имеют важное значение в прогрессировании злокачественных новообразо-

ваний. Семейство металлопротеиназ, вырабатываемых как клетками опухоли, так и ее микроокружением – макрофагами, лимфоцитами, фибробластами, компонентами экстрацеллюлярного матрикса, участвуют в разрушении внеклеточного матрикса и формируют компоненты для ремоделирования ткани. Таким образом, ММП-9 играют важную роль в процессе интраваскулярного роста и метастазирования меланомы хориоидеи. Росту и прогрессированию опухоли способствуют процессы ауторегуляции в ней с ремоделированием микроокружения.

Иммуногистохимическое исследование экстрацеллюлярного матрикса в меланомах хориоидеи (ММП-9, коллагена IV типа) позволяет выявить различия в их экспрессии в меланоме хориоидеи с отдаленными метастазами и без метастазов, а также в нормальных тканях глаза (сетчатка, хориоидея, склера). При этом их не следует считать факторами прогноза болезни и нецелесообразно рассматривать в качестве потенциального диагностического маркера метастазирования меланомы хориоидеи. Полученные результаты могут быть дополнительными к рутинному патогистологическому исследованию при выделении прогностически неблагоприятной группы и для мониторинга течения заболевания. Это намечает пути для поиска прогностических критериев метастазирования опухоли.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.Ю. Шаманова, Е.Л. Казачков, И.Е. Панова.
Сбор и обработка материала – А.Ю. Шаманова.
Написание текста – А.Ю. Шаманова.
Редактирование – А.Ю. Шаманова, Е.Л. Казачков, И.Е. Панова.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A. Yu. Shamanova, E.L. Kazachkov, I.E. Panova.
Collected the data and performed the analysis – A. Yu. Shamanova.
Wrote the paper – A. Yu. Shamanova.
Edited the manuscript – A. Yu. Shamanova, E.L. Kazachkov, I.E. Panova.

Литература/References

1. Панова И.Е., Власова О.С., Гюнтнер Е.И., Самкович Е.В., Шаманова А.Ю. Клинико-инструментальные критерии риска метастазирования меланомы хориоидеи. Российский офтальмологический журнал. 2019;12(3):30–36. DOI: 10.21516/2072-0076-2019-12-3-30-36.
Panova IE, Vlasova OS, Gyuntner EI, Samkovich EV, Shamanova AYU. Determining the risk of metastasis of choroidal melanoma: clinical and instrumental criteria. Russian Ophthalmological Journal. 2019;12(3):30–36 (In Russ.). DOI: 10.21516/2072-0076-2019-12-3-30-36.
2. Мяделец О.Д. Основы цитологии, эмбриологии и общей гистологии: Медицинская книга. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2002. 361 с.
Myadelets OD. Fundamentals of cytology, embryology and general histology: Medical book. Nizhny Novgorod: Izdatel'stvo NGMA, 2002. 361 p. (In Russ.).
3. Наумова Л.А., Стародумова В.А. Экстрацеллюлярный матрикс как информационная клеточная микросреда. Бюллетень сибирской медицины. 2020;19(4):215–225. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-215-225.
Naumova LA, Starodumova VA. Extracellular matrix as a cellular information microenvironment. Bulletin of Siberian Medicine. 2020;19(4): 215–225 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-215-225.
4. Серов В.В., Пальцев М.А., Ганзен Т.Н. Руководство к практическим занятиям по патологической анатомии. Москва: Медицина, 1998. 544 с.
Serov VV, Paltsev MA, Ganzen TN. Guide to practical classes on pathological anatomy. Moscow: Medicine, 1998. 544 p. (In Russ.).
5. Jansen KA, Donato DM, Balcioglu HE, Schmidt T, Danen EH, Koenderink GH. A guide to mechanobiology: Where biology and physics meet. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1853(11 Pt B): 3043–52. DOI: 10.1016/j.bbamer.2015.05.007.
6. HE Grossniklaus, CG Eberhart, TT Kivela (eds.). WHO Classification of tumours of the eye. Lyon: IARC Press, 2018. 4th ed. V. 12. 224 p.
7. Петров С.В., Раихлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд. Казань: Татмедиа, 2012. 624 с.
Petrov SV, Raikhlin NT. Guidelines for immunohistochemical diagnosis of human tumors. 4th ed. Kazan: Tatmedia, 2012. 624 p. (In Russ.).
8. Д.Л. Кумар, Л. Рудбек (ред.). Иммуногистохимические методы: Руководство. Пер. с англ. / Под ред. Г.А. Франка, П.Г. Малькова. Москва: 2011. 224 с.
GL Kumar, L Rudbeck (eds.). Immunohistochemical methods: A Guide. Translated from English / Edited by GA Frank, PG Malkov. Moscow, 2011. 224 p. (In Russ.).
9. Thomas S, Pütter C, Weber S, Bornfeld N, Lohmann DR, Zeschmigg M. Prognostic significance of chromosome 3 alterations determined by microsatellite analysis in uveal melanoma: A long-term follow-up study. *Br J Cancer.* 2012;106(6):1171–6. DOI: 10.1038/bjc.2012.54.
10. Harbour JW, Onken MD, Roberson ED, Duan S, Cao L, Worley LA et al. Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science.* 2010;330(6009):1410–3. DOI: 10.1126/science.1194472.
11. Landreville S, Agapova OA, Matatall KA, Kneass ZT, Onken MD, Lee RS et al. Histone deacetylase inhibitors induce growth arrest and differentiation in uveal melanoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18(2):408–16. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0946.
12. Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014;15(12):1243–53. DOI: 10.15252/embr.201439246.
13. Levental KR, Yu H, Kass L, Lakins JN, Egeblad M, Erler JT et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell.* 2009;139(5):891–906. DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.027.
14. Acerbi I, Cassereau L, Dean I, Shi Q, Au A, Park C et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM

- stiffening and immune cell infiltration. *Integr Biol (Camb)*. 2015;(10):1120–34. DOI: 10.1039/c5ib00040h.
15. Miroshnikova YA, Rozenberg GI, Cassereau L, Pickup M, Mouw JK, Ou G et al. alpha5beta1-Integrin promotes tension-dependent mammary epithelial cell invasion by engaging the fibronectin synergy site. *Mol Biol Cell*. 2017;28(22):2958–77. DOI: 10.1091/mbc.E17-02-0126.
 16. Goddard ET, Bozic I, Riddell SR, Ghajar CM. Dormant tumour cells, their niches and the influence of immunity. *Nat Cell Biol*. 2018;20(11): 1240–9. DOI: 10.1038/s41556-018-0214-0.
 17. Герштейн Е.С., Огнерубов Н.А., Кушлинский Н.Е. Ассоциированные с опухолью протеазы и их тканевые ингибиторы. В кн.: Н.Е. Кушлинский, М.А. Красильников (ред.). Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования. Москва: Издательство РАМН, 2017. С. 197–230.
Gerstein ES, Ognerubov NA, Kushlinsky NE. Tumor-associated proteases and their tissue inhibitors. In: NE Kushlinsky, MA Krasilnikov (eds.). *Biological tumor markers: basic and clinical research*. Moscow: Izdatel'stvo RAMN, 2017. P. 197–230 (In Russ.).
 18. Merchant N, Nagaraju GP, Rajitha B, Lammata SL, Jella KK, Buchwald ZS et al. Matrix metalloproteinases: Their functional role in lung cancer. *Carcinogenesis*. 2017;38(8):766–80. DOI: 10.1093/carcin/bgx063.
 19. Hieronimus B, Pfohl J, Busch C, Graeve L. Expression and characterization of membrane-type 4 matrix metalloproteinase (MT4-MMP) and its different forms in melanoma. *Cell Physiol Biochem*. 2017;42(1):198–210. DOI: 10.1159/000477311.
 20. Tanaka R, Terai M, Londin E, Sato T. The role of HGF/MET signaling in metastatic uveal melanoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13(21):5457. DOI: 10.3390/cancers13215457.
 21. Bérubé M, Talbot M, Collin C, Paquet-Bouchard C, Germain L, Guérin SL et al. Role of the extracellular matrix proteins in the resistance of SP6.5 uveal melanoma cells toward cisplatin. *Int J Oncol*. 2005;26(2):405–13. PMID: 15645125.
 22. Чернявская М.А., Ефремов А.В., Черных В.В., Пустоветова М.Г. Содержание матриксной металлопротеиназы-9 в слезной и внутриглазной жидкости при меланоме хориоидеи. Сибирский научный медицинский журнал. 2015;35(3):16–20. Доступно по адресу: <http://sibmed.net/article/344/3-3-2015.pdf> (получено 01.08.2022).
Chernyavskaya MA, Efremov AV, Chernykh VV, Pustovetova MG. Content of matrix metalloproteinase-9 in the lacrimal and intraocular liquids in choroidal melanoma. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2015;35(3):16–20 (In Russ.). Available from: <http://sibmed.net/article/344/3-3-2015.pdf> (accessed 01.08.2022).
 23. Zheng S, Chang Y, Hodges KB, Sun Y, Ma X, Xue Y et al. Expression of KISS1 and MMP-9 in non-small cell lung cancer and their relations to metastasis and survival. *Anticancer Res*. 2010;30(3):713–8. PMID: 20392988.
 24. Buhmeida A, Bendardaf R, Hilska M, Collan Y, Laato M, Syrjänen S et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in stage II colorectal carcinoma. *J Gastrointest Cancer*. 2009;40(3–4):91–7. DOI: 10.1007/s12029-009-9091-x.
 25. Bendardaf R, Buhmeida A, Hilska M, Laato M, Syrjänen S, Syrjänen K et al. MMP-9 (gelatinase B) expression is associated with disease-free survival and disease-specific survival in colorectal cancer patients. *Cancer Invest*. 2010;28(1):38–43. DOI: 10.3109/07357900802672761.
 26. Vasala K, Pääkko P, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) immunoreactive protein in urinary bladder cancer: A marker of favorable prognosis. *Anticancer Res*. 2008;28(3B):1757–61. PMID: 18630455.
 27. Väisänen AH, Kallioinen M, Turpeenniemi-Hujanen T. Comparison of the prognostic value of matrix metalloproteinases 2 and 9 in cutaneous melanoma. *Hum Pathol*. 2008;39(3):377–85. DOI: 10.1016/j.humpath.2007.06.021.
 28. El-Shabrawi Y, Ardjomand N, Radner H, Ardjomand N. MMP-9 is predominantly expressed in epithelioid and not spindle cell uveal melanoma. *J Pathol*. 2001;194(2):201–6. DOI: 10.1002/1096-9896(200106)194:2<201::AID-PATH840>3.0.CO;2-O.
 29. Coelho-Sampaio T, Tenchov B, Nascimento MA, Hochman-Mendez C, Morandi V, Caarls MB et al. Type IV collagen conforms to the organization of poly laminin adsorbed on planar substrata. *Acta Biomater*. 2020;111:242–53. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.05.021.
 30. Lin AY, Maniotis AJ, Valyi-Nagy K, Majumdar D, Setty S, Kadkol S et al. Distinguishing fibrovascular septa from vasculogenic mimicry patterns. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(7):884–92. DOI: 10.5858/2005-129-884-DFSFVM.
 31. Thies A, Mangold U, Moll I, Schumacher U. PAS-positive loops and networks as a prognostic indicator in cutaneous malignant melanoma. *J Pathol*. 2001;195(5):537–542. DOI: 10.1002/path.988.
 32. Chen HB, Chen L, Zhung JK, Chow VW, Wu BQ, Wang ZH et al. Expression of laminin in metastatic melanoma cell lines with different metastatic potential. *Anticancer Res*. 2001;21(1A):505–8. PMID: 11299788.
 33. Daniels KJ, Boldt HC, Martin JA, Gardner LM, Meyer M, Folberg R. Expression of type VI collagen in uveal melanoma: Role in pattern formation and tumor progression. *Lab Invest*. 1996;75(1):55–66. PMID: 8683940.

Информация об авторах

Анна Юрьевна Шаманова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ЮУГМУ, врач-патологоанатом лабораторно-диагностической службы Челябинского областного клинического центра онкологии и ядерной медицины.

Евгений Леонидович Казачков – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ЮУГМУ.

Ирина Евгеньевна Панова – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова.

Author information

Anna Yu. Shamanova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, V.L. Kovalenko Department of Anatomical Pathology and Forensic Medicine, South Ural State Medical University; Pathologist, Laboratory and Diagnostic Service, Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-9280-0608>

Evgeny L. Kazachkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the V.L. Kovalenko Department of Anatomical Pathology and Forensic Medicine, South Ural State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

Irina E. Panova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, S.N. Fedorov National Medical Research Center “Inter-Sectoral Research and Technical Complex ‘Eye microsurgery’”, St. Petersburg Branch.

<https://orcid.org/0000-0001-7443-4555>

Клинико-морфологические особенности локального амилоидоза гортани

*З.В. Гюева^{1,2}, Р.А. Вандышева¹, А.А. Епхиев², А.А. Габуева²,
Н.Г. Дзадзиева², Л.М. Ерофеева¹, Л.М. Михалева¹*

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГНБУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России, Владикавказ, Россия

Резюме. *Введение.* Амилоидоз является диспротеинозом, характеризующимся внеклеточным отложением в органах и тканях аномального фибриллярного белка – амилоида, что приводит к атрофии, склерозу и нарушению функций разных органов. В большинстве случаев данное заболевание носит системный характер, однако в клинической практике встречаются и локальные формы амилоидоза. Локальный амилоидоз гортани – редкая патология, на его долю приходится около 15% от всех форм локального амилоидоза.

Цель исследования – изучить патоморфологические особенности локального амилоидоза гортани.

Материалы и методы. Проведено исследование клинического, биопсийного и послеоперационного материала шести пациентов с локальным амилоидозом гортани. Амилоидные отложения идентифицировались при исследовании срезов, окрашенных конго красным, в поляризованном свете. Иммуногистохимическое типирование проводилось при помощи моноклональных и поликлональных антител к различным типам амилоида.

Результаты. Амилоидоз гортани диагностирован у четырех мужчин и двух женщин в возрасте от 44 до 62 лет (средний возраст 54 года). Амилоидные массы обнаруживались в виде интерстициальных или опухолевидных отложений, при исследовании в поляризованном свете отмечалось яркое яблочно-зеленое свечение амилоида. В большинстве случаев визуализировался воспалительный клеточный инфильтрат, а также многоядерные гигантские клетки. В результате иммуногистохимического типирования AL-каппа амилоидоз диагностирован в четырех случаях, а AL-лямбда – в двух наблюдениях. Рецидив заболевания отмечался у двух пациентов.

Заключение. При локальных формах амилоидоза гортань является самым часто поражаемым органом в области головы и шеи. В нашем исследовании преобладали случаи с AL-каппа амилоидозом, преимущественно у лиц мужского пола. Ввиду высокой частоты рецидивов необходимо многолетнее наблюдение пациента после удаления амилоидных отложений.

Ключевые слова: амилоидоз, гортань, амилоидома, локальный амилоидоз, иммуногистохимия

Для корреспонденции: Зарина Владиславовна Гюева. E-mail: gioeva_z@mail.ru

Для цитирования: Гюева З.В., Вандышева Р.А., Епхиев А.А., Габуева А.А., Дзадзиева Н.Г., Ерофеева Л.М., Михалева Л.М. Клинико-морфологические особенности локального амилоидоза гортани. *Клин. эксп. морфология.* 2022;11(4):38–47. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.38-47.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 16.08.2022. Получена после рецензирования 12.09.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Clinical and morphological features of localized laryngeal amyloidosis

*Z.V. Gioeva^{1,2}, R.A. Vandyшева¹, A.A. Ephiev², A.A. Gabueva²,
N.G. Dzadzиеva², L.M. Erofeeva¹, L.M. Mikhaleva¹*

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russia

² North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Vladikavkaz, Russia

Abstract. *Introduction.* Amyloidosis is a disease characterized by extracellular deposition of insoluble fibrils composed of an abnormal protein, amyloid. This protein builds up in various tissues and organs and interferes with their function leading to atrophy and sclerosis. Amyloidosis is usually a systemic disease.

However, there are case reports of localized amyloidosis. Localized laryngeal amyloidosis is a rare condition accounting for approximately 15% of localized amyloidosis. The aim of the research was to describe morphological features of localized laryngeal amyloidosis.

Materials and methods. We analyzed clinical findings, biopsy, and surgical specimens of 6 patients with localized laryngeal amyloidosis. Amyloid deposits were detected in tissue sections with Congo red stain with polarized light microscopy. We performed immunohistochemical analysis with monoclonal and polyclonal antibodies to detect different amyloid types.

Results. Laryngeal amyloidosis was diagnosed in 4 male and 2 female patients aged from 44 to 62 (the mean age was 54 years). We found amyloid deposits in the interstitial spaces and tumor-like masses; in polarized light, amyloid showed a bright apple-green birefringence. Inflammatory cell infiltrate and multinucleated giant cells were visualized in most cases. Based on the immunohistochemical typing results, 4 patients had AL-kappa amyloidosis and 2 patients were diagnosed with AL-lambda amyloidosis. The disease recurrence was reported in 2 cases.

Conclusion. In the head and neck area, the larynx is the most common site affected by localized amyloidosis. AL-kappa amyloidosis prevailed in our study, most of them being in men. In view of high recurrence rates, a long-term follow-up is needed after the amyloid deposit excision.

Keywords: amyloidosis, larynx, amyloidoma, localized amyloidosis, immunohistochemistry

Corresponding author: Zarina V. Goeva. E-mail: goeva_z@mail.ru

For citation: Goeva Z.V., Vandysheva R.A., Ephiev A.A., Gabueva A.A., Dzadzieva N.G., Erofeeva L.M., Mikhaleva L.M. Clinical and morphological features of localized laryngeal amyloidosis. Clin. exp. morphol. 2022;11(4):38–47 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.38-47.

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

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

Received 16.08.2022. **Received in revised form** 12.09.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Ведение

Амилоидоз является диспротеинозом, характеризующимся экстрацеллюлярным отложением в органах и тканях нерастворимого фибриллярного белка – амилоида. На сегодняшний день идентифицированы 36 белков-предшественников, вызывающих различные типы амилоидоза, из которых 18 приводят к развитию системного амилоидоза, а 22 белка участвуют в формировании локального амилоидоза. Некоторые типы белков-предшественников могут быть проявлениями как системной, так и изолированной формы амилоидоза (AL, AH, APrP, ACal) [1].

Самым распространенным как локальным, так и системным типом амилоидоза является AL-амилоидоз [2]. Отличие между локальной и системной формой AL-амилоидоза заключается в том, что при локальной форме синтез белка-предшественника осуществляется только в одной анатомической локализации с образованием амилоидного очага, без способности к проникновению в кровотоки. При системном амилоидозе белок-предшественник может циркулировать в крови и поражать любой орган. Для правильной дифференциальной диагностики необходим учет патогенетических различий обоих вариантов, позволяющий отличить локальный клон плазмочитов от костномозгового.

Этиология локального амилоидоза до сих пор окончательно не установлена. Одна из теорий, описанных в литературе, предполагает ответную реакцию циркулирующих белков-предшественников, плазматических клеток и/или иммуноглобулинов на локальные травмы

и воспалительные реакции. Согласно другой теории, амилоид может откладываться в результате неспособности организма справиться с избытком неправильно уложенных иммуноглобулинов, продуцируемых моноклональными плазматическими клетками [3, 4].

Существует гипотеза профессора P. Westermark, согласно которой гигантские клетки, превалирующие при локальных формах амилоидоза, играют важную роль в амилоидогенезе [5]. По мнению ученого, плазматические клетки синтезируют амилоидогенную легкую цепь иммуноглобулина, которая модифицируется гигантскими клетками в амилоидные фибриллы.

Локальный амилоидоз может встречаться практически в любом органе, но наиболее часто поражаются веки, гортань, бронхи, кожа, мочевыводящие пути [6, 7].

Амилоидоз гортани составляет 14–15% от всех форм локального амилоидоза, она является наиболее часто поражаемым органом в области головы и шеи [4]. На долю амилоидоза приходится 0,2–1,2% от всех доброкачественных опухолеподобных поражений гортани [8–10]. В литературе нередко встречается термин «амилоидома», обозначающий опухолевидный амилоидный очаг, который часто наблюдается при амилоидном поражении гортани, а также может обнаруживаться в головном мозге, коже, легких, подкожной жировой клетчатке [11–13].

Амилоидоз гортани описывается как хроническое, прогрессирующее, рецидивирующее заболевание, проявляющееся в виде осиплости голоса, одышки, стридора, с характерными полипоидными или субэпителиальными инфильтративными поражениями [14, 15].

В связи с тем, что данная патология встречается достаточно редко и не имеет специфической клинической симптоматики, маскируясь под разные заболевания гортани, в том числе доброкачественные новообразования, у клиницистов возникают определенные сложности, приводящие к различным диагностическим ошибкам. В данной статье отражен наш опыт клинической и патоморфологической диагностики локального амилоидоза гортани, а также проведен анализ имеющихся в литературе научных исследований по локальному амилоидозу.

Материалы и методы

Проведено патоморфологическое исследование биопсийного и послеоперационного материала шести пациентов с локальным амилоидозом гортани в возрасте от 44 до 62 лет (средний возраст 54 года): четырех мужчин и двух женщин (табл.).

Все биоптаты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и конго красным. Амилоидные отложения идентифицировали при исследовании срезов в поляризованном свете.

Иммуногистохимическое исследование проводилось с использованием поликлональных антител к Р-компоненту амилоида и транстирретину (Cloud-Clone Corp, США), моноклональных антител к AL-каппа (клон CH15, Leica, Novocastra, Leica Biosystems, США) и AL-лямбда (клон SHL53, Novocastra, Leica Biosystems, США) легким цепям, AA-амилоиду (клон C3, Cloud-Clone Corp, США) на иммуноштейнере Leica BOND-Max (Leica Biosystems, США).

После патоморфологического подтверждения диагноза всех пациентов обследовали на предмет системного амилоидоза, однако ни в одном случае он не был диагностирован.

Результаты

Учитывая редкость локального амилоидоза, особенно с поражением гортани, приводим подробное описание всех шести клинических наблюдений в данной статье.

Наблюдение 1

Пациент В., 59 лет. Обратился в ЛОР-отделение с жалобами на ощущение кома в горле и охриплость. В течение последних двух лет отмечал постепенное нарастание дискомфорта в области гортани. Периодически проводились курсы противовоспалительной терапии, которые не давали особого эффекта. Состояние ухудшилось после перенесенной ОРВИ, усилилась хрипота. При проведении ларингоскопического исследования с биопсией было обнаружено крупнобугристое образование розового цвета в области надгортанника. При патоморфологическом исследовании биоптатов, окрашенных гематоксилином и эозином, в собственной пластинке слизистой оболочки гортани обнаружены гомогенные эозинофильные опухолевидные структуры, вокруг которых визуализировались гигантские клетки инородных тел. При окрашивании конго красным амилоидные массы кирпично-красного цвета, при исследовании в поляризованном свете – с характерным яблочно-зеленым свечением. При ИГХ типировании отмечены иммунопозитивное окрашивание с антителом к Р-компоненту амилоида, негативная реакция с антителами к AL-каппа, ATTR и AA-амилоидозу и выраженная иммунопозитивная реакция с антителом к AL-лямбда амилоидозу (рис. 1). Заключение: биоптат слизистой оболочки гортани с интерстициальными и опухолевидными AL-лямбда амилоидными отложениями.

Наблюдение 2

Пациент Т., 54 года. Проведена повторная операция по удалению опухоли подвязочного пространства гортани. Из анамнеза известно, что первая операция проводилась 2 года назад, патоморфологически был подтвержден амилоидоз без уточнения его типа.

Патоморфологическое исследование: в субэпителиальной соединительной ткани выраженные отложения гомогенных эозинофильных субстанций, частично глыбчатой структуры, вокруг которых обнаруживаются многоядерные гигантские клетки. При окрашивании конго красным амилоидные массы кирпично-красного цвета, при исследовании в поляризо-

Таблица | Table

Распределение пациентов по полу, возрасту, локализации и типу амилоидных отложений |
Distribution of patients by sex, age, location, and type of amyloid deposits

№ случая Case No.	Пол Sex	Возраст, лет Age, years	Локализация амилоидных отложений Location of amyloid deposits	Тип амилоида Amyloid type
1	Мужской Male	59	Надгортанник Epiglottis	AL-lambda
2	Мужской Male	54	Подвязочное пространство гортани Subglottis	AL-kappa
3	Мужской Male	62	Подвязочное пространство гортани Subglottis	AL-kappa
4	Женский Female	52	Голосовая складка Vocal fold	AL-kappa
5	Женский Female	54	Подскладочный отдел гортани Subglottic region	AL-lambda
6	Мужской Male	44	Вестибулярный отдел гортани Laryngeal vestibule	AL-kappa

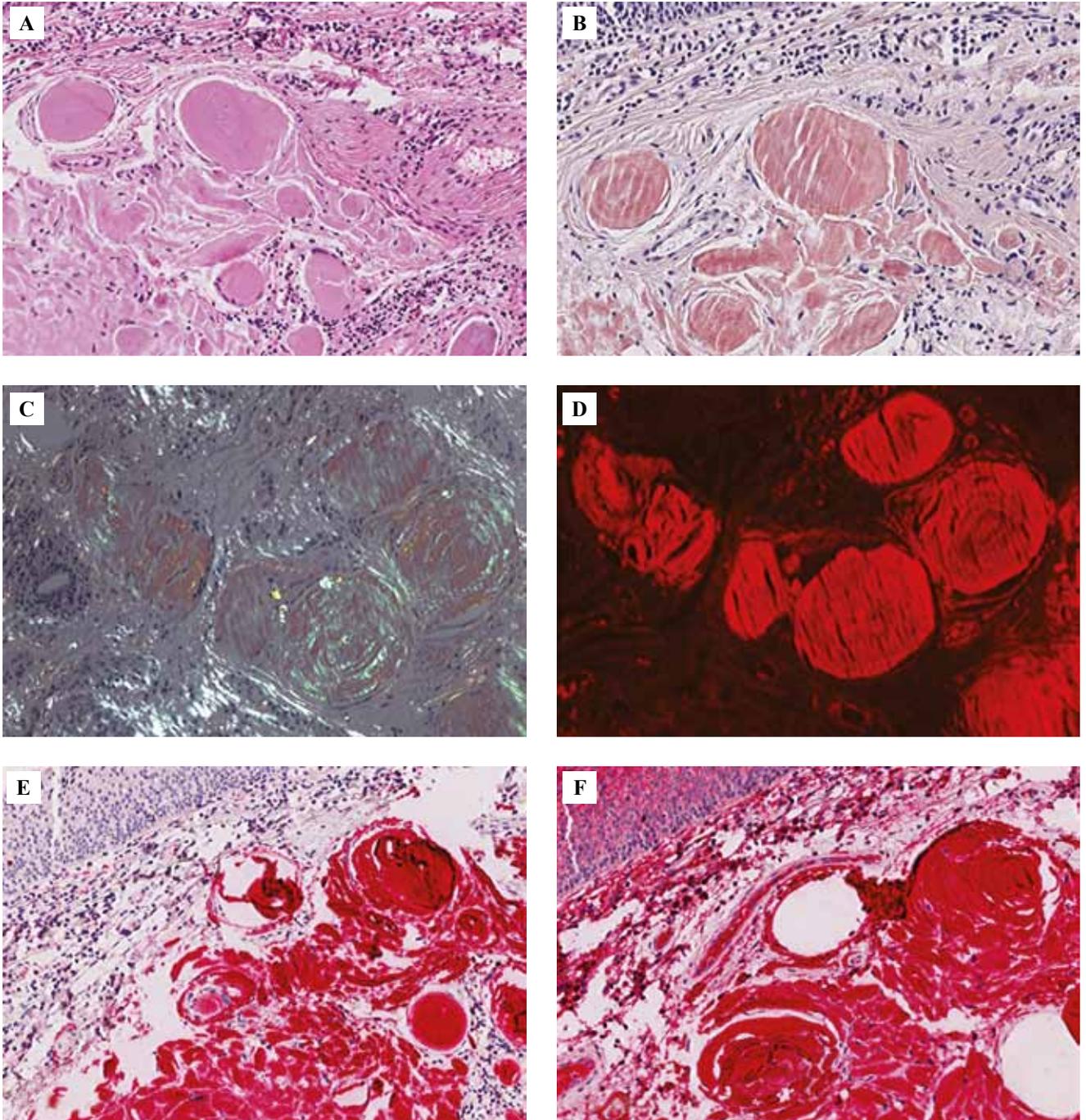


Рис. 1. Наблюдение 1. Иммуногистохимическое типирование амилоидных отложений в гортани.

А – в биоптате гортани обнаружены гомогенные эозинофильные опухолевидные образования. Окраска гематоксилином и эозином. В – при окрашивании конго красным амилоидные массы кирпично-красного цвета. С – эффект двойного лучепреломления с яблочно-зеленым свечением амилоидных масс при исследовании в поляризованном свете. Д – яркое свечение амилоидных субстанций при флуоресцентном исследовании. Е, F – выраженная иммунопозитивная реакция при окраске с антителом к Р-компоненту амилоида (Е) и антителом к AL-лямбда амилоиду (F). Е–Н – ИГХ окрашивание. А–Н – $\times 400$

Fig. 1. Case 1. Immunohistochemical typing of amyloid deposits in the larynx.

A – homogenous eosinophilic tumor-like masses found in the larynx biopsy specimens. H&E stain. B – brick-red amyloid deposits. Congo red stain. C – apple-green birefringence of amyloid deposits. Polarized light microscopy. D – a bright birefringence of amyloid substances using fluorescence; E, F – an intense positive reaction with serum amyloid P-component antibody (E) and AL-lambda amyloid antibody (F). E–H – IHC assay. A–H – $\times 400$

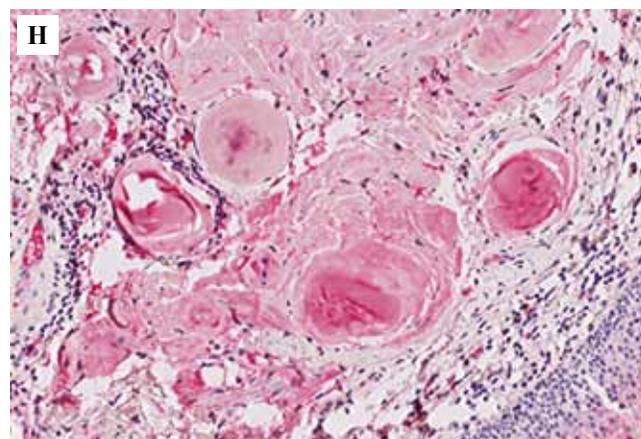
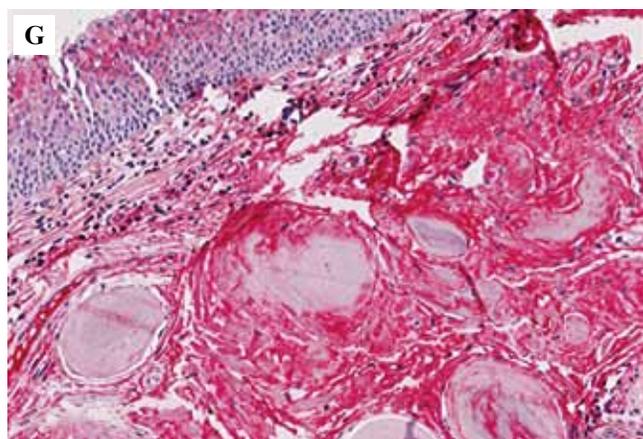


Рис. 1 (окончание). G, H – негативная иммунная окраска с антителами к AL-каппа (G) и транстирретиновому (H) амилоидозу.
Fig. 1. (end). G, H – negative immune staining with AL-kappa amyloid antibodies (G) and transthyretin (H) amyloidosis.

ванном свете с характерным яблочно-зеленым свечением. ИГХ типирование показало иммунопозитивную реакцию с антителом к Р-компоненту амилоида и ярко выраженную иммунную реакцию с антителом к AL-каппа амилоиду. Заключение: опухоль подвязочного пространства гортани – амилоидома, с выраженными интерстициальными AL-каппа амилоидными отложениями.

Наблюдение 3

Пациент Л., 62 года. Впервые обратился к оториноларингологу 2,5 года назад с жалобами на осиплость голоса и ощущение дискомфорта в области гортани. При обследовании обнаружено бугристое образование на нижней поверхности голосовых складок, взята биопсия и диагностирован амилоидоз. От хирургического лечения пациент отказался, решив, что дискомфорт не столь значительный и он не готов к оперативному лечению. Однако спустя 2,5 года вновь обратился в ЛОР-отделение с жалобами на осиплость и появившееся ощущение нехватки воздуха при малейшей физической нагрузке. При видеоларингостробоскопии выявлено объемное опухолевидное образование на нижней поверхности голосовых складок в виде полипа на широкой ножке, препятствующее их смыканию при фонации. Опухолевидное образование было удалено. При патоморфологическом исследовании операционного материала в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, обнаружены ацеллюлярные розовые массы с очагами лимфоплазмочитарной инфильтрации, среди которых видны единичные гигантские клетки инородных тел (рис. 2). При исследовании материала в поляризованном свете обнаруживалось яркое яблочно-зеленое свечение амилоида. ИГХ исследование показало иммунонегативную реакцию с антителами к AA-, AL-лямбда и АТТГР-амилоидозу и иммунопозитивную реакцию с антителами к Р-компоненту амилоида и AL-каппа амилоиду. Заключение: выраженные интерстициальные AL-каппа амилоидные отложения в гортани.

Наблюдение 4

Пациентка М., 52 года. Согласно анамнезу, 3 года назад была проведена операция по удалению опухолевидного образования в области подвязочного пространства гортани без предварительного биопсийного исследования. При проведении патоморфологического исследования операционного материала диагностирован амилоидоз без уточнения его типа. Спустя 3 года пациентка вновь ощутила дискомфорт в области гортани, появилась осиплость голоса. При ларингоскопическом исследовании в подвязочном пространстве гортани обнаружено плотное бугристое образование, была проведена биопсия.

Патоморфологическое исследование: биоптат слизистой оболочки подвязочного пространства гортани, покрытый плоскоклеточным эпителием со слюнными железами и выраженными отложениями гомогенного эозинофильного материала, которые частично привели к атрофии желез. Среди амилоидных субстанций визуализируются плотный круглоклеточный инфильтрат и многоядерные гигантские клетки. При окрашивании конго красным амилоидные массы кирпично-

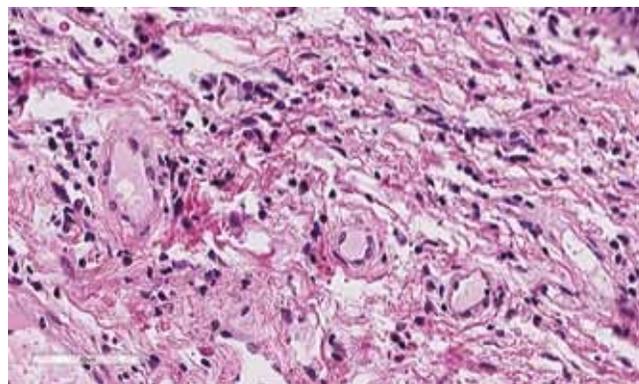


Рис. 2. Наблюдение 3. Гигантские клетки инородных тел в биоптате слизистой оболочки гортани. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 2. Case 3. Giant cells of foreign bodies in biopsy specimens of the laryngeal mucous membrane. H&E stain, $\times 400$

красного цвета, при исследовании в поляризованном свете с характерным яблочно-зеленым свечением. При ИГХ исследовании амилоидные массы имели положительную фрагментарную иммунореактивность с антителом к Р-компоненту амилоида и ярко выраженную гомогенную иммунопозитивную реакцию с антителом к AL-каппа амилоиду. Отмечена иммунонегативная реакция с антителами к AA-, AL-лямбда и ATTR-амилоидозу. Заключение: AL-каппа амилоидоз подсвязочного пространства гортани.

Наблюдение 5

Пациентка И., 54 года. Впервые обратилась к оториноларингологу с жалобами на осиплость голоса и ощущение дискомфорта во время разговора. Из анамнеза известно, что жалобы появились 8 месяцев назад, после перенесенной ОРВИ. Пациентка наблюдалась у оториноларинголога в поликлинике, был поставлен диагноз «подострый катаральный ларингит». Периодически осиплость голоса исчезала, голосовая функция улучшалась, но полное выздоровление не наступало. При ларингоскопии обнаружено опухолевидное образование в вестибулярном отделе гортани, проведена биопсия.

При патоморфологическом исследовании визуализировались гомогенные эозинофильные структуры, которые при окрашивании конго красным имели кирпично-красный цвет, а при исследовании в поляризованном свете – характерное яблочно-зеленое свечение. В окружающей ткани лимфоплазмочитарный инфильтрат, состоящий преимущественно из малых лимфоцитов и незначительного числа плазматических клеток. Атипичные плазмциты и лимфоциты не обнаружены. При ИГХ типировании отмечена иммунопозитивная реакция с антителом к Р-компоненту амилоида и AL-лямбда амилоиду. Отрицательная иммунная реакция выявлена с антителами к AL-каппа, AA- и ATTR-амилоиду. Заключение: AL-лямбда амилоидоз вестибулярного отдела гортани.

Наблюдение 6

Пациент В., 44 года. Обратился в ЛОР-отделение с жалобами на осиплость в течение 1,5 года, одышку при физической нагрузке. При проведении видеоларингоскопии обнаружено циркулярное сужение подскладочного отдела ввиду наличия бугристого опухолевидного образования розового цвета. Пациента направили в онкологический диспансер для исключения опухолевого процесса, была проведена биопсия.

Патоморфологическое исследование: биоптат слизистой оболочки с опухолевидными отложениями гомогенных эозинофильных субстанций, имеющих при окрашивании конго красным кирпично-красный цвет, при исследовании в поляризованном свете – очень яркое яблочно-зеленое свечение. Между амилоидными массами расположены многоядерные гигантские клетки, а также плотный круглоклеточный инфильтрат, со-

держащий большое количество плазматических клеток и лимфоцитов. При ИГХ исследовании амилоидные структуры имели фрагментарную иммунореактивность с антителом к Р-компоненту амилоида и яркую гомогенную иммунопозитивную реакцию с антителом к AL-каппа амилоиду. Заключение: AL-каппа амилоидоз слизистой оболочки гортани. Хроническое неспецифическое воспаление.

Обсуждение

Локальный амилоидоз является редким заболеванием, на его долю приходится от 10 до 20% всех случаев амилоидоза. На сегодняшний день в литературе есть три масштабных исследования по локальному амилоидозу, в которых описаны особенности амилоидных отложений в разных органах, клиническая симптоматика, эффективность хирургического лечения и оценивается частота рецидивов заболевания по результатам длительного наблюдения пациентов. Самым большим по числу пациентов является исследование Национального центра по амилоидозу (НАС, Великобритания) – 606 случаев локального амилоидоза, среди них 92 пациента (15%) с амилоидозом гортани или миндалин [6]. Группа исследователей из клиники Мэйо (США) опубликовала данные о 413 случаях локального амилоидоза, в том числе 57 случаях (14%) с амилоидозом гортани [7]. Немецкая группа исследователей сообщила о 293 пациентах с локальным амилоидозом, из них 51 случай (17%) с амилоидозом гортани [16].

П.П. Тао и соавт. опубликовали данные о 30 пациентах с локальным амилоидозом, среди которых самой частой была ларинготрахеобронхиальная форма (40%) [17]. В исследовании, проведенном В.П. Быковой и соавт., описано 11 наблюдений локального опухолевидного амилоидоза верхних дыхательных путей, среди которых чаще всего диагностирован амилоидоз гортани (55%) [15].

Проблема диагностики амилоидоза гортани в том, что данное заболевание клинически имитирует проявления других поражений гортани, требующих специализированных патогистологических исследований.

В редких случаях амилоидоз гортани может сочетаться с поражением трахеобронхиального дерева, что клинически проявляется в виде кашля, кровохарканья и дыхательной недостаточности. Для подтверждения амилоидного поражения трахеобронхиального дерева необходимо провести бронхоскопию со взятием биопсийного материала [18].

В зависимости от распространенности патологического процесса выделяют диффузную и узловую (опухолевидную) формы амилоидоза гортани. Амилоидные массы могут откладываться во всех отделах гортани без каких-либо клинических проявлений в течение длительного времени. Наиболее часто амилоид обнаруживается в вестибулярном отделе, включая надскладочную область, вестибулярную голосовую складку

и стенку гортанного желудочка. Возможно поражение истинных голосовых складок и подскладочного отдела. При ларингоскопическом исследовании обнаруживаются неспецифические субмукозные уплотнения желтоватого или розового цвета без изъязвления слизистой оболочки. В случае отложений амилоида на голосовых складках могут визуализироваться белесоватые полипы на широком основании.

Для подтверждения клинического диагноза пациенту проводят глубокую инцизионную биопсию с последующим морфологическим исследованием, включающим специфическое окрашивание конго красным для верификации амилоида. Локальный амилоидоз отличается от системного морфологическим внешним видом амилоида, наличием клональных плазматических клеток и гигантских многоядерных клеток. Интересно отметить, что при локальной форме амилоидные субстанции имеют более сильное сродство к конго красному и характеризуются более ярким двойным лучепреломлением, чем при системных формах амилоидоза.

У пациентов с опухолевидной формой амилоидных отложений первично предполагается опухолевое заболевание и биопсия проводится гораздо раньше, чем при диффузных депозитах. Однако при патоморфологическом исследовании зачастую внимание морфолога направлено на выявление клеточной атипии, а анализ межклеточной ткани может быть проведен недостаточно, что приводит к неправильной диагностике.

В дальнейшем необходимо иммуногистохимическое типирование амилоида, при котором, как правило, обнаруживается AL-амилоидоз [19]. При локальных формах амилоидоза одинаково часто встречаются случаи с AL-каппа или AL-лямбда амилоидом, в то время как при системных формах соотношение AL-лямбда к AL-каппа примерно 3–4:1 [5]. В литературе описаны очень редкие случаи, когда амилоидоз гортани был одним из первых проявлений системного заболевания, обусловленного наследственным АроА1-амилоидозом, при котором амилоидные отложения не такие плотные и крупные, как при AL-амилоидозе [20].

Амилоидное поражение гортани может встречаться в любой возрастной группе, одинаково часто у мужчин и женщин. Тем не менее есть исследования, в которых амилоидоз чаще обнаруживался у мужчин, в соотношении 3:1 [21]. В нашем исследовании также преобладали лица мужского пола.

В литературе описаны редкие случаи амилоидоза гортани в детском возрасте. П.П. Тао и соавт. описали интересный случай амилоидоза гортани у 4-летней девочки [17], а М.В. Субботина и соавт. – амилоидоз гортани у девочки 13 лет [22].

Гортань может поражаться и при системных формах амилоидоза, поэтому очень важно установить, действительно ли амилоидоз является локальным. G. Harris et al. провели самое большое исследование – 100 случаев амилоидного поражения гортани [4]. Они разработали схему обследования пациентов, которая позво-

ляет убедиться в том, что это действительно локальная форма амилоидоза. Схема включает в себя комплексное обследование пациента, проведение электрофореза с иммунофиксацией сыворотки крови и мочи, а при обнаружении циркулирующего иммуноглобулина – аспирационную биопсию костного мозга и подкожной жировой клетчатки, скинтиграфию с радиоактивным сывороточным амилоидом-Р. Дополнительно необходимы оценка функции сердца при помощи методов визуализации и биомаркеров (при наличии показаний), КТ органов грудной клетки [4].

AL-амилоидоз является самым частым видом локального амилоидоза. В нашем исследовании AL-каппа амилоидоз обнаружен в четырех случаях из шести – это подтверждает теорию Пера Вестермарка, что каппа и лямбда амилоидоз встречается одинаково часто при локальных формах амилоидоза. Однако M. Basset et al. в своем исследовании по локальному амилоидозу обнаружили, что соотношение лямбда к каппа амилоидозу все-таки составляет 3:1, отметив при этом, что тип амилоида зависит от локализации. В группе пациентов с амилоидозом гортани 39% были с каппа амилоидозом, а 61% – с лямбда [16]. Преобладание случаев с AL-каппа амилоидом в соотношении 3:1 отмечено в исследовании NAC [6], в исследовании клиники Мэйо соотношение было 1:1 [7].

Одна из характерных морфологических особенностей локального амилоидоза гортани – частое наличие в биопсийном или операционном материале гигантских многоядерных клеток и воспалительного клеточного инфильтрата, содержащего лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги [23, 24]. В нашем исследовании воспалительный инфильтрат наблюдался в четырех случаях из шести (67%), а гигантские многоядерные клетки обнаружены у пяти пациентов (83%). M. Basset et al. обнаружили воспалительный инфильтрат у 123 пациентов с локальным амилоидозом (80%), а многоядерные гигантские клетки визуализировались у 91 пациента (59%) [16].

По имеющимся данным, локальный амилоидоз гортани крайне редко переходит в системную форму. Согласно исследованиям Национального центра по амилоидозу, системная форма развилась лишь у 1% пациентов [6]. M. Basset et al. наблюдали системное прогрессирование у 1% пациентов, однако среди них не было ни одного с амилоидозом гортани [16]. H. Bartels et al. сообщали о пациенте, у которого развилось системное заболевание через 8 лет после выявления локального амилоидоза гортани. Однако подробности первоначального обследования и диагноза не были известны, и авторы предполагают, что у этого пациента с самого начала мог быть системный амилоидоз [25].

T. Basset et al. считают, что случаи с системным прогрессированием при локальном амилоидозе могут быть результатом первоначальной диагностической ошибки, в ситуациях, когда системный амилоидоз расценивается ввиду отсутствия клинических проявлений как

локальный [7]. Особенно затруднительно классифицировать случаи изолированного поражения лимфатических узлов и легких, которые могут наблюдаться как при локальных, так и при системных формах амилоидоза [26].

Одной из важных проблем локального амилоидоза является частое рецидивирование. В исследовании G. Harris et al. отмечено, что у 34% пациентов с амилоидозом гортани хирургическое вмешательство потребовалось более одного раза [4]. Такое же большое число рецидивов и необходимость повторных операций описывают в результатах своих длительных наблюдений A.J. Hazenberg et al., сообщая, что две трети пациентов, возможно, в последующем будут нуждаться в ревизионной хирургии, а половина из них уже спустя год после проведения первой операции [27]. T.V. Kourelis et al. отметили, что локальное прогрессирование заболевания наблюдалось у 17% пациентов [7]. M. Basset et al. наблюдали рецидив у 37% пациентов с амилоидозом гортани, среди которых в первый год после хирургического лечения рецидив отмечался у 78%, а в течение следующих 5 лет – у 52% [16]. В работе K. Bhujel et al. описано длительное наблюдение после хирургического лечения 13 пациентов с амилоидозом гортани, но рецидив был обнаружен лишь в одном случае [23].

В нашем исследовании рецидив заболевания отмечен у двух из шести пациентов, оба случая были при AL-каппа амилоидозе. У мужчины амилоидные отложения обнаружены спустя 2 года после хирургического лечения, а у женщины через 3 года после операции.

Учитывая высокую частоту рецидивов, длительное наблюдение является очень важным для всех пациентов с локальным амилоидозом гортани. Оно должно включать в себя регулярное комплексное обследование верхних дыхательных путей с проведением видеоназальной эндоскопии 1–2 раза в год, а в случае минимальных подозрений на распространение амилоидных отложений в ларингобронхиальной области – проведение КТ высокого разрешения. M. Mesolella et al. рекомендуют осуществлять периодическое наблюдение пациента в течение 10 лет после последнего хирургического вмешательства [28].

Заключение

При локальных формах амилоидоза гортань является самым часто поражаемым органом в области головы и шеи.

Проведенный клинико-морфологический анализ шести клинических наблюдений локального амилоидоза гортани демонстрирует сложность ранней диагностики ввиду наличия различной неспецифической клинической симптоматики, протекающей под маской воспалительных заболеваний гортани или доброкачественных новообразований, осложняющей диагностический поиск. Поздняя диагностика связана также с длительным отсутствием клинических проявлений у пациентов. Данная патология может одинаково часто

встречаться как у мужчин, так и у женщин. В нашем исследовании амилоидоз гортани диагностирован у четырех мужчин и двух женщин в возрасте от 44 до 62 лет (средний возраст 54 года). В работе преобладали наблюдения с AL-каппа амилоидозом, что подтверждает данные литературы об одинаковом соотношении AL-каппа и AL-лямбда случаев при локальных формах амилоидоза в отличие от системного, при котором преобладает AL-лямбда амилоидоз. Рецидивирование является одной из основных проблем локального амилоидоза. В нашем исследовании повторное хирургическое вмешательство потребовалось двум пациентам из шести.

Таким образом, диагностика и лечение данной патологии требуют междисциплинарного подхода с обязательным участием оториноларинголога, онколога и патолога. Ввиду высокой склонности к рецидивам необходимо долговременное наблюдение пациентов после удаления амилоидного очага.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – З.В. Гюева, Л.М. Михалева, А.А. Епхийев.

Сбор и обработка материала – З.В. Гюева, А.А. Габуева, Н.Г. Дзадзиева.

Написание текста – З.В. Гюева, Л.М. Ерофеева, Р.А. Вандышева. Редактирование – Л.М. Михалева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – Z.V. Gioeva, L.M. Mikhaleva, A.A. Ephiev.

Collected the data and performed the analysis – Z.V. Gioeva, A.A. Gabueva, N.G. Dzadzieva.

Wrote the paper – Z.V. Gioeva, L.M. Erofeeva, R.A. Vandysheva.

Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva.

Литература/References

1. *Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, Merlini G, Saraiva MJM, Sekijima Y et al.* Amyloid nomenclature 2020: Update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2020;27(4):217–22. DOI: 10.1080/13506129.2020.1835263.
2. *Михалева Л.М., Гюева З.В., Рёкен К.* Оптимизация иммуногистохимической диагностики AL-амилоидоза при помощи новых антител. *Архив патологии*. 2015;77(5):58–63. DOI: 10.17116/patol201577558-63.
Mikhaleva LM, Gioeva ZV, Rëken K. Optimization of the immunohistochemical diagnosis of AL amyloidosis using novel antibodies. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology*. 2015;77(5):58–63 (In Russ). DOI: 10.17116/patol201577558-63.
3. *Vaxman I, Gertz M.* Recent advances in the diagnosis, risk stratification, and management of systemic light-chain amyloidosis. *Acta Haematol*. 2019;141(2):93–106. DOI: 10.1159/000495455.
4. *Harris G, Lachmann H, Hawkins P, Sandhu G.* One hundred cases of localized laryngeal amyloidosis – Evidence for future management. *Laryngoscope*. 2021;131(6):E1912–E1917. DOI: 10.1002/lary.29320.
5. *Westermarck P.* Localized AL amyloidosis: A suicidal neoplasm? *Ups J Med Sci*. 2012;117(2):244–50. DOI: 10.3109/03009734.2012.654861.

6. *Mahmood S, Bridoux F, Venner CP, Sachchithanatham S, Gilbertson JA, Rowczenio D et al.* Natural history and outcomes in localised immunoglobulin light-chain amyloidosis: A long-term observational study. *Lancet Haematol.* 2015;2(6):e241–50. DOI: 10.1016/S2352-3026(15)00068-X.
7. *Basset TV, Kyle RA, Dingli D, Buadi FK, Kumar SK, Gertz MA et al.* Presentation and outcomes of localized immunoglobulin light chain amyloidosis: The Mayo Clinic experience. *Mayo Clin Proc.* 2017;92(6):908–17. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.02.016.
8. *Wadhwa A, Verma B, Dabholkar YG.* Isolated primary Laryngeal amyloidosis: A case series of a rare presentation of change in voice. *An International Journal of Otorhinolaryngology Clinics.* 2021;13(2):73–75. DOI: 10.5005/jp-journals-10003-1384.
9. *Mouzouri M, Eabdenbitsen A, Lachkar A, Ghailan MR.* Laryngeal amyloidosis: A case report. *Integrative Journal of Medical Sciences.* 2020;7:176. DOI: 10.15342/ijms.7.176.
10. *Phillips NM, Matthews E, Altmann C, Agnew J, Burns H.* Laryngeal amyloidosis: Diagnosis, pathophysiology and management. *J Laryngol Otol.* 2017;131(S2):S41–S47. DOI: 10.1017/S0022215117000780.
11. *Yamashita H, Fujimoto M, Yokogawa R, Taguchi T, Ohara J, Ogata H et al.* Cerebral amyloidoma accompanied by Sjögren's syndrome: A case report and literature review. *NMC Case Rep J.* 2021;8(1):781–6. DOI: 10.2176/nmccrj.cr.2021-0088.
12. *Samlaska C, Reber S, Murry T.* Insulin-derived amyloidosis: The insulin ball, amyloidoma. *JAAD Case Rep.* 2020;6(4):351–3. DOI: 10.1016/j.jidcr.2020.02.011.
13. *Casal Moura M, Navin PJ, Johnson GB, Hartman TE, Baqir M, Yi ES et al.* Pulmonary nodules in patients with primary Sjögren's syndrome: Causes, clinico-radiologic features, and outcomes. *Respir Med.* 2020;174:106200. DOI: 10.1016/j.rmed.2020.106200.
14. *Zainol S, Azman M, Muthusamy S.* Isolated laryngeal amyloidosis: A case report. *The Egyptian Journal of Otolaryngology.* 2018;34:359–62. DOI: 10.4103/ejo.ejo_12_18.
15. *Быкова В.П., Дайкес Н.А., Платонова Г.А., Бахтин А.А., Корниенко Р.А., Романенко С.Г. и др.* Опухолевидный амилоидоз верхних дыхательных путей. *Архив патологии.* 2019;81(5):74–79. DOI:10.17116/patol20198105174.
Vykova VP, Daïkhes NA, Platonova GA, Bakhtin AA, Kornienko RA, Romanenko SG et al. Tumor-like amyloidosis of the upper respiratory tract. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology.* 2019;81(5):74–79 (In Russ.). DOI:10.17116/patol20198105174.
16. *Basset M, Hummedah K, Kimmich C, Veelken K, Dittrich T, Brandelik S et al.* Localized immunoglobulin light chain amyloidosis: Novel insights including prognostic factors for local progression. *Am J Hematol.* 2020;95(10):1158–69. DOI: 10.1002/ajh.25915.
17. *Tao П.П., Рамеев В.В., Рамеева А.С., Русских А.В., Лысенко Л.В. (Козловская).* Проблемы диагностики и лечения локального AL-амилоидоза. *Клиническая фармакология и терапия.* 2019;28(3):39–46. DOI: 10.32756/0869-5490-2019-3-39-46.
Tao PP, Rameev VV, Rameeva AS, Russkikh AV, Lysenko LV (Koslovskaya). Diagnosis and treatment of localized AL-amyloidosis. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clinical Pharmacology and Therapy.* 2019;28(3):39–46 (In Russ.). DOI: 10.32756/0869-5490-2019-3-39-46.
18. *Степанова Ю.Е., Готовыхина Т.В., Савин А.Н., Антонов Н.Н.* Особенности клинических проявлений амилоидоза гортани. *Российская оториноларингология.* 2016;5(84):80–87. DOI: 10.18692/1810-4800-2016-5-80-87.
Stepanova YE, Gotovyakhina TV, Savin AN, Antonov NN. Specific features of clinical manifestations of laryngeal amyloidosis. *Russian Otorhinolaryngology.* 2016;5(84):80–87 (In Russ.). DOI: 10.18692/1810-4800-2016-5-80-87.
19. *Raviraj A, Menon JR, Mathew AS.* Laryngeal Amyloidosis: A decadal experience. *Int J Phonosurg Laryngol.* 2021;11(1):5–9. DOI: 10.5005/jp-journals-10023-1197.
20. *Hazenber AJ, Dikkers FG, Hawkins PN, Bijzet J, Rowczenio D, Gilbertson J et al.* Laryngeal presentation of systemic apolipoprotein A-I-derived amyloidosis. *Laryngoscope.* 2009;119(3):608–15. DOI: 10.1002/lary.20106.
21. *Stevenson R, Witteles R, Damrose E, Arai S, Lafayette RA, Schrier S et al.* More than a frog in the throat: A case series and review of localized laryngeal amyloidosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;138(5):509–11. DOI: 10.1001/archoto.2012.423.
22. *Субботина М.В., Приходько Т.Д., Баракин А.О., Костюнин К.Ю.* Случай амилоидоза гортани у 13-летней девочки. *Вестник оториноларингологии.* 2019;84(4):48–50. DOI:10.17116/otorino20198404148.
Subbotina MV, Prikhodko TD, Barakin AO, Kostyunin KYu. A case report of amyloidosis of the larynx in a 13-year-old girl. *Vestnik Oto-Rino-Laringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology.* 2019;84(4):48–50 (In Russ.). DOI: 10.17116/otorino20198404148.
23. *Bhujel K, Bhowmick N, Gandhi S, Sharma H, Mishra D.* Primary Laryngeal Amyloidosis and CO2 laser as the treatment modality. *Bengal Journal of Otolaryngology and Head Neck Surgery (BJOHNS).* 2021;29(2):119–24. DOI:10.47210/bjohns.2021.v29i2.437.
24. *Horhat ID, Balica NC, Urechescu HC, Baderca F, Poenaru M, Doros CI et al.* Rare benign tumor of the larynx – laryngeal amyloidosis. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(4):1263–8. PMID: 30845310.
25. *Bartels H, Dikkers FG, van der Wal JE, Lokhorst HM, Hazenberg BP.* Laryngeal amyloidosis: Localized versus systemic disease and update on diagnosis and therapy. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2004;113(9):741–8. DOI: 10.1177/000348940411300913.
26. *Baumgart JV, Stuhlmann-Laeisz C, Hegenbart U, Nattenmüller J, Schönland S, Krüger S et al.* Local vs. systemic pulmonary amyloidosis-impact on diagnostics and clinical management. *Virchows Arch.* 2018;473(5):627–37. DOI: 10.1007/s00428-018-2442-x.
27. *Hazenber AJ, Hazenberg BP, Dikkers FG.* Long-term follow-up after surgery in localized laryngeal amyloidosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273(9):2613–20. DOI: 10.1007/s00405-016-4061-y.
28. *Mesoellella M, Petruzzi G, Buono S, Salerno G, Salzano FA, Di Lorenzo G et al.* Focus on localized laryngeal amyloidosis: management of five cases. *Open Med (Wars).* 2020;15(1):327–32. DOI: 10.1515/med-2020-0400.

Информация об авторах

Зарина Владиславовна Гиоева – кандидат медицинских наук, заведующая центральной патологоанатомической лабораторией НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», доцент кафедры патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Росица Андреевна Вандышева – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Александр Алибекович Епхив – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Алина Акимовна Габуева – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Наталья Григорьевна Дзадзиева – ассистент кафедры патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Людмила Михайловна Ерофеева – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник центральной патологоанатомической лаборатории НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Людмила Михайловна Михалева – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского».

Author information

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Head of the Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy.
<https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Rositsa A. Vandysheva – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-9253-3044>

Alexander A. Ephiev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy.
<https://orcid.org/0000-0002-9126-2019>

Alina A. Gabueva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy.
<https://orcid.org/0000-0001-6420-3593>

Natalya. G. Dzadoeva – Assistant, Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy.
<https://orcid.org/0000-0001-7004-5886>

Liudmila M. Erofeeva – Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Central Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0003-2949-1432>

Liudmila M. Mikhaleva – Corresponding Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, Avtsyn Research Institute of Human Morphology FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

Особенности клинической и морфологической диагностики рецидивного меланоцитарного невуса

Т.А. Гайдина^{1,2}, О.И. Пацап^{2,3}, А.С. Дворников¹

¹ ФГАОУ ВО Российский научный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия

³ Научно-образовательный ресурсный центр «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа», Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Резюме. Несмотря на распространенность меланоцитарных невусов кожи (МНК) у населения, тактика ведения пациентов, особенно с множественными МНК, остается неоднозначной. Частота рецидивирования МНК после удаления, по данным разных авторов, колеблется от 11,7% при shave-биопсии до 20% при деструктивных физических методах удаления. Рецидивирующий меланоцитарный невус кожи (РМНК) является гистологическим имитатором меланомы кожи (МК) и требует тщательной диагностики. В статье представлен клинический случай РМНК, диагностированного с помощью оптического устройства Handyscope (FotoFinder; Германия) и искусственного интеллекта Handyscope3, подтвержденный последующим гистологическим исследованием. Так как невозможно спрогнозировать заранее, при удалении какого МНК возникнет рецидив, и обращая внимание на тот факт, что возникновение рецидива МНК не всегда коррелирует с объемом операции и опытом оперирующего врача, необходимо разработать четкие критерии принятия решения о целесообразности и способе удаления МНК, в том числе с использованием искусственного интеллекта. Все удаления МНК должны проводиться только с гистологическим исследованием и обязательным последующим наблюдением пациентов в течение длительного времени.

Ключевые слова: рецидивный меланоцитарный невус кожи, меланома кожи, меланоцитарный невус кожи

Для корреспонденции: Ольга Игоревна Пацап. E-mail: patsap.o@fccps.ru

Для цитирования: Гайдина Т.А., Пацап О.И., Дворников А.С. Особенности клинической и морфологической диагностики рецидивного меланоцитарного невуса. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):48–52. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.48-52.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 16.11.2021. Получена после рецензирования 30.11.2021. Принята в печать 16.12.2021.

Features of clinical and histological diagnosis of recurrent melanocytic nevus

T.A. Gaydina^{1,2}, O.I. Patsap^{2,3}, A.S. Dvornikov¹

¹ Pirogov Russian Scientific Research Medical University, Moscow, Russia

² Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

³ Scientific and Educational Resource Center “Innovative Technologies of Immunophenotyping, Digital Spatial Profiling and Ultrastructural Analysis”, RUDN University, Moscow, Russia

Abstract. Despite the prevalence of melanocytic skin nevi (MSN) in the population, the management of patients especially with multiple melanocytic nevi remains ambiguous. According to some studies, after removal, the frequency of recurrence of MSN ranges from 11.7% to 20% after shave biopsy and destructive physical methods, respectively. Recurrent melanocytic skin nevus is a histological mimic of skin melanoma and requires careful diagnosis. The article presents a clinical case of recurrent melanocytic nevus that was first diagnosed with an optical device Handyscope (FotoFinder; Germany) and Handyscope3 app based on artificial intelligence (AI) and then confirmed by subsequent histological examination. Since it is impossible to predict which MSN will relapse and considering that the recurrence of melanocytic nevi does not always correlate with amount of lesion excision and a surgeon’s experience, it is necessary to develop clear criteria on the feasibility and removal method of melanocytic nevi, including the use of AI. All removals of melanocytic nevi should be carried out only with histological examination with further mandatory long-term follow-up.

Keywords: recurrent melanocytic skin nevus, melanoma of the skin, melanocytic skin nevus

Corresponding author: Olga I. Patsap. E-mail: patsap.o@fccps.ru

For citation: Gaydina T.A., Patsap O.I., Dvornikov A.S. Features of clinical and histological diagnosis of recurrent melanocytic nevus. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):48–52 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.48-52.

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

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

Received 16.11.2021. **Received in revised form** 30.11.2021. **Accepted** 16.12.2021.

Введение

Несмотря на распространенность меланоцитарных невусов кожи (МНК) у населения, тактика ведения пациентов, особенно с множественными МНК, остается неоднозначной [1]. Решение о необходимости и о способе удаления МНК принимается врачом индивидуально для каждого пациента на основании клинической картины (локализация, размер новообразования), технического оснащения клиники, а также эстетических запросов пациента. Радикальным методом удаления является хирургическое иссечение МНК с обязательным гистологическим исследованием. Тем не менее в практике часто используют деструктивные физические методы удаления (различные виды лазеров, электрокоагуляция, радиоволновая хирургия), нарушая технику взятия биологического материала для гистологического исследования удаленного МНК или совсем его игнорируя. Частота рецидивирования МНК после удаления, по данным разных авторов, колеблется от 11,7% при shave-биопсии до 20% при деструктивных

физических методах удаления, что делает данную проблему актуальной. Причиной рецидивирования является пролиферация оставшихся неопластических меланоцитов после неполного удаления. Рецидивирующий меланоцитарный невус кожи (РМНК) расценивается как гистологический имитатор меланомы кожи (МК) и требует тщательной диагностики.

Клиническое наблюдение

Пациент К. обратился в клинику с жалобами на образование на коже спины. Осмотр: кожный покров чистый, II тип кожи по Фитцпатрику. Общее число МНК 53. Больше всего МНК расположено на коже спины и груди. Пациента беспокоило образование на коже спины, которое выступало над уровнем кожи и подвергалось постоянной травматизации (рис. 1 А).

Status localis: светло-коричневая папула мягкой консистенции с ровными краями и четкими границами, незначительно возвышающаяся над поверхностью кожи. Поверхность шероховатая. *Дерматоскопические*

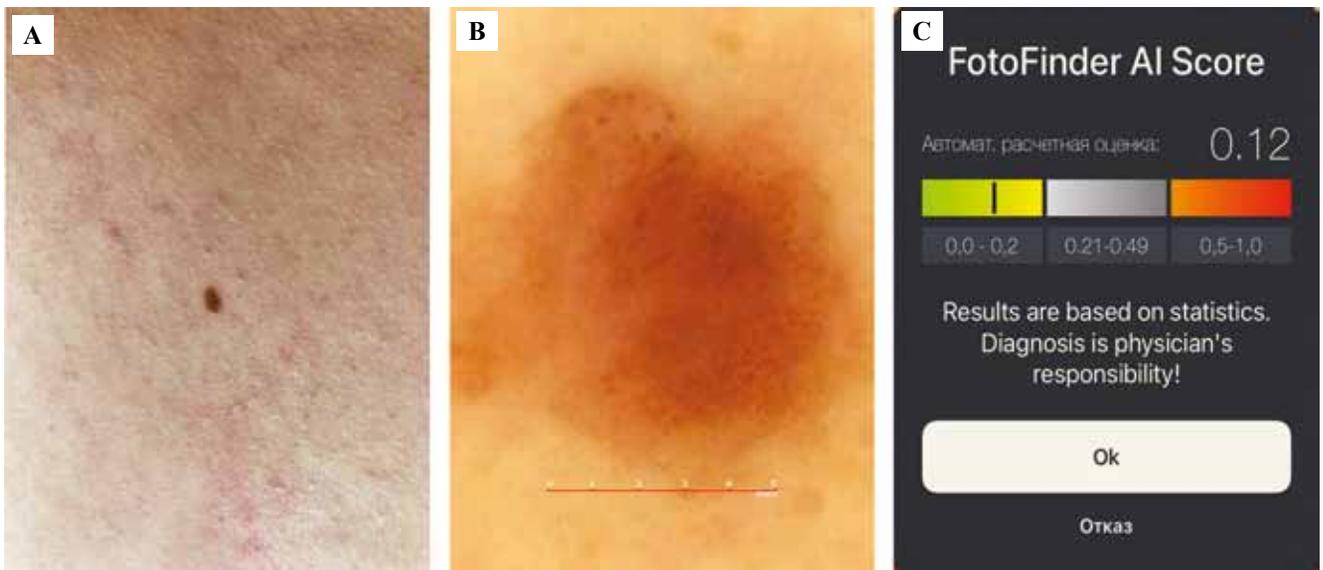


Рис. 1. Новообразование кожи спины.

А – макроснимок новообразования на коже спины, В – дерматоскопический микроснимок новообразования на коже спины, С – оценка дерматоскопического микроснимка новообразования искусственным интеллектом (красная часть шкалы – более подозрительные новообразования в отношении риска злокачественности)

Fig. 1. Neoplasm of the back of the skin.

А – macrograph of a neoplasm on the skin of the back, В – dermoscopic micrograph of a neoplasm on the skin of the back, С – assessment of the dermoscopic micrograph of the neoplasm by AI (red portion of the scale represents more suspicious neoplasms in relation to its malignancy risk)

признаки внутридермального меланоцитарного невуса кожи. Дерматоскопический микроснимок (рис. 1 В) был сделан с использованием оптического устройства Handyscope (FotoFinder; Германия) с 20-кратным увеличением, сопряженного со смартфоном, под управлением мобильного приложения Handyscope3. В данном приложении искусственный интеллект представляет собой сверточную нейронную сеть (convolutional neural networks, CNN), которая обучена на более чем 100 000 микроснимков новообразований кожи с гистологически подтвержденным диагнозом [2]. Компьютерный анализ CNN в мобильном приложении Handyscope3 показал низкий риск злокачественности новообразования (зеленая зона 0,12) (рис. 1 С). Пациенту был поставлен клинический диагноз «Меланоцитарный невус кожи. МКБ-10: D22.5. Меланоформный невус туловища».

Пациент настаивал на удалении данного образования, поэтому было принято решение о shave-биопсии

МНК под инфильтрационной анестезией с гистологическим исследованием удаленного материала и последующей обработкой операционной раны CO₂-лазером с целью остановки кровотечения и выравнивания ее краев.

Получено гистологическое заключение: МКБ-10: «D22.5. Морфологическая картина смешанного (пограничного + интрадермального) меланоформного невуса. В краях резекции невоидные клетки отсутствуют».

На повторном приеме через два месяца у пациента обнаружен рецидив новообразования (рис. 2 А).

Status localis: ярко-коричневое асимметричное пятно с рваными краями и четкими границами, не выходящее за пределы рубца. Клиническая картина значительно отличалась от таковой при первичном новообразовании.

Дерматоскопия: на фоне остаточной эритемы в области нормотрофического рубца после удаления пер-

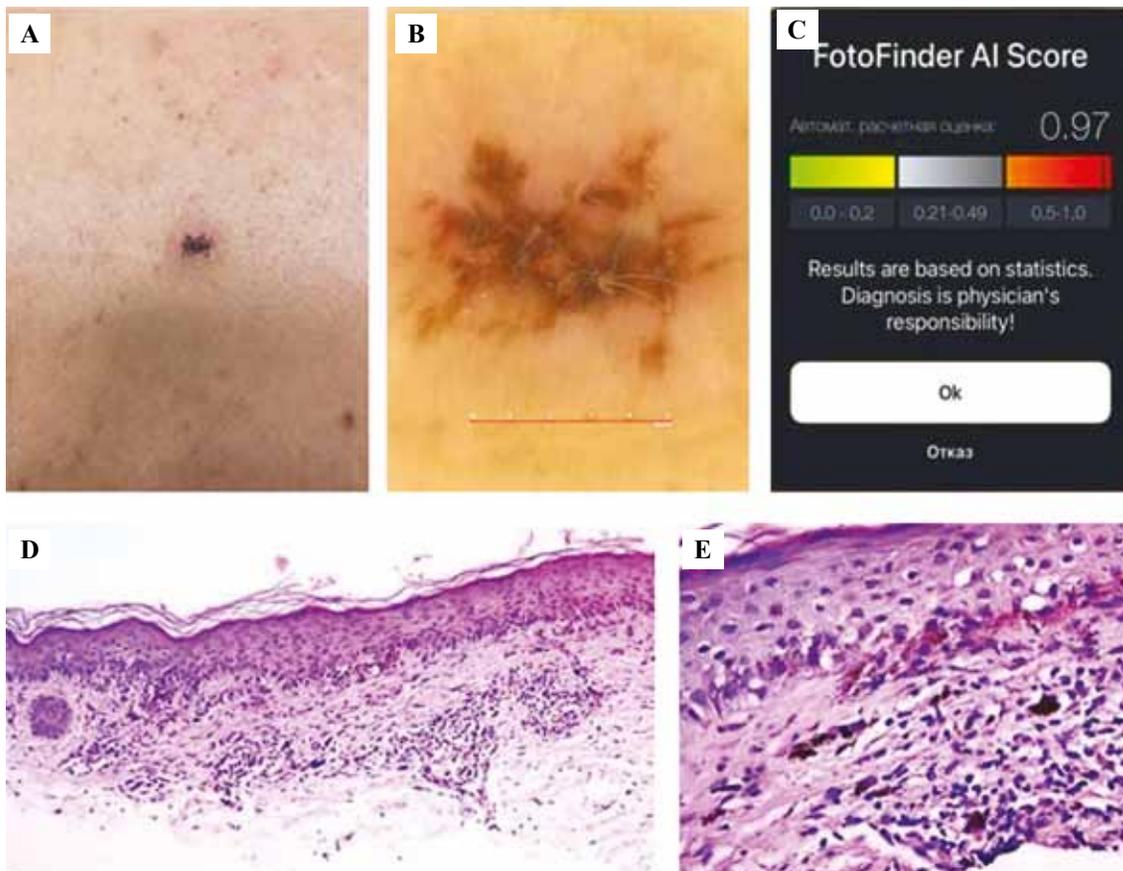


Рис. 2. Рецидивирующее новообразование кожи спины.

А – макроснимок рецидивного невуса, возникшего на месте удаления новообразования кожи спины, В – дерматоскопический микроснимок рецидивного невуса, С – оценка дерматоскопического микроснимка рецидивного невуса искусственным интеллектом (красная часть шкалы – более подозрительные новообразования в отношении риска злокачественности), D – рецидивный меланоцитарный невус, окраска гематоксилином и эозином, ×100, E – невоидные клетки в эпителии с регрессом и лимфоциты, окраска гематоксилином и эозином, ×400

Fig. 2. Recurrent neoplasm of the skin of the back.

A – macrograph of a recurrent nevus that appeared at the site of the removed neoplasm of the skin of the back, B – dermoscopic micrograph of the recurrent nevus, C – assessment of the dermoscopic micrograph of the recurrent nevus by AI (the red part of the scale indicates a higher risk of malignancy of the neoplasm), D – recurrent melanocytic nevus, H&E stain, ×100, E – nevoid cells in the epithelium with regression and lymphocytes, H&E stain, ×400

вичного МНК определяется пигментное пятно с неровными краями коричневого цвета и более темными участками, обусловленными неравномерным распределением меланина. Пигментация не выходит за пределы зоны удаления (рис. 2 В).

Компьютерный анализ дерматоскопического фотоснимка искусственным интеллектом в мобильном приложении Handyscope3 показал более высокий риск злокачественности новообразования (красная зона 0,97) (рис. 2 С) по сравнению с первичным МНК.

Клинический диагноз: рецидивный невус.

Пациент незамедлительно был направлен к онкологу для удаления рецидивного невуса и определения последующей тактики лечения. После повторного хирургического радикального удаления рецидивного невуса получено гистологическое заключение: МКБ-10: «D22.5. Меланоцитарный смешанный невус с регрессом (M8760/0)» (рис. 2 D, E).

На осмотре через 2 месяца у пациента сформировался нормотрофический рубец без признаков рецидива.

После первого удаления МНК способом shave-биопсии при соблюдении всех правил проведения процедуры был получен неудовлетворительный результат – МНК рецидивировал. После повторного радикального удаления РМНК результат удовлетворительный – нормотрофический рубец без признаков рецидива.

Обсуждение

Частота рецидивирования МНК после удаления, по данным разных авторов, колеблется от 11,7% при shave-биопсии [3] до 20% при деструкции физическими способами, что делает данную проблему актуальной. Спрогнозировать заранее, при удалении какого МНК возникнет рецидив, невозможно. Возникновение рецидива МНК не всегда коррелирует с объемом операции и опытом оперирующего врача. L. Sommer et al. считают, что РМНК чаще встречаются у женщин, причем наиболее распространенным местом рецидивирования эти специалисты определили кожу на спине. Диспластические меланоцитарные невусы, по их данным, рецидивировали с наибольшей вероятностью. Точное определение исходного типа меланоцитарного невуса при микроскопическом исследовании РМНК было возможно только в 67% случаев [4]. R. Neck et al. отметили, что молодые люди с темным фототипом кожи имеют повышенный риск развития рецидива МНК после shave-биопсии. Они предложили дерматоскопию первичного МНК и нижней стороны операционного образца после shave-биопсии для прогнозирования рецидива [5]. РМНК может возникнуть и после травмы [6]. Такие косметологические процедуры как IPL-терапия (Intense Pulsed Light-терапия интенсивным импульсным светом), шлифование кожи CO₂-лазером и другие способы физического воздействия могут приводить к повреждению МНК и их частичному удалению [7]. Особую сложность представляют

собой ситуации, когда возникает РМНК, а данные гистологического исследования первичного МНК отсутствуют. В таком случае нельзя исключить МК. Одним из важных дифференциальных признаков рецидива МК является пигментация, выходящая за границы рубца после удаления МНК [8]. Если пигментация не выходит за пределы рубца, можно предположить доброкачественность РМНК. Тем не менее клиницисты должны помнить, что МК может возникнуть в области РМНК, даже если в материале предыдущей биопсии было диагностировано доброкачественное новообразование [9]. Дерматоскопия расширяет диагностические возможности при оценке РМНК, но окончательная интерпретация результатов требует учета возраста пациента, локализации РМНК, времени до рецидива, характера роста и гистопатологических результатов первого иссечения [10]. Стандартная интерпретация результатов дерматоскопии РМНК может ввести в заблуждение, поскольку, согласно оценке по правилу ABCDE, у рецидивных невусов прослеживаются такие признаки МК как А – asymmetry (асимметрия), В – borders (неровные границы), С – color (полихромия), D – diameter (значительные эволютивные изменения, то есть увеличение в размерах образования) в течение последних 6 месяцев (четыре признака МК из пяти). Гистологическое исследование остается золотым стандартом для диагностики и классификации МНК и РМНК при условии высокой квалификации патоморфолога. В идеале клиницист должен помечать для морфолога наиболее подозрительные участки. Для клинициста важно владеть техникой правильного взятия гистологического материала. Материал при shave-биопсии берут полностью, обязательно включая края нормальной кожи с отступом 1–3 мм. Shave-биопсию предпочтительно использовать для эпидермальных образований без инфильтрации в дерму. Даже при соблюдении всех требований удаления МНК с исследованием гистологического материала пациентов необходимо наблюдать в течение длительного времени для исключения РМНК и МК [11].

Заключение

Обращая внимание на тот факт, что рецидивирующий меланоцитарный невус кожи является гистологическим имитатором меланомы кожи и требует тщательной диагностики, необходимо разработать четкие критерии принятия решения о целесообразности и способе удаления новообразования, включая анализ данных, полученных с помощью искусственного интеллекта. Все удаления меланоцитарных невусов кожи должны проводиться с обязательным последующим гистологическим исследованием и наблюдением пациентов в течение длительного времени.

Литература/References

1. Ларина ВН, Гайдина ТА, Дворников АС, Назимкин КЕ. Возможности обследования пациентов с подозрительными на

- меланому новообразованиями кожи, впервые выявленными в первичном звене здравоохранения. Архив внутренней медицины. 2022;2(64):85–92. DOI: 10.20514/2226-6704-2021-12-2-85-92.
- Larina VN, Gaydina TA, Dvornikov AS, Nazimkin KE. The principles of examination of patients with detected melanoma suspected skin neoplasm in the primary health care stage. The Russian Archives of Internal Medicine. 2022;12(2):85–92. DOI: 10.20514/2226-6704-2021-12-2-85-92.
- Gaydina TA, Dvornikova EG. Efficacy of smartphone-compatible optical instrument for assessing melanocytic nevi for malignancy. Bulletin of Russian State Medical University. 2020;(5):108–12. DOI: 10.24075/brsmu.2020.065.
 - Camini L, Manzoni APD, Weber MB, Luzzato L, Soares AS, Bonamigo RR. Shave excision versus elliptical excision of nonpigmented intradermal melanocytic nevi: Comparative assessment of recurrence and cosmetic outcomes. Dermatol Surg. 2021;47(2):e21–e25. DOI: 10.1097/DSS.0000000000002666.
 - Sommer LL, Barcia SM, Clarke LE, Helm KF. Persistent melanocytic nevi: A review and analysis of 205 cases. J Cutan Pathol. 2011;38(6):503–7. DOI:10.1111/j.1600-0560.2011.01692.x.
 - Heck R, Ferrari T, Cartell A, Bakos RM. Clinical and dermoscopic (in vivo and ex vivo) predictors of recurrent nevi. Eur J Dermatol. 2019;29(2):179–84. DOI:10.1684/ejd.2019.3530.
 - Selan M, Šekoranja D, Starbek Zorko M. A traumatized melanocytic nevus with atypical clinical and dermoscopic features: A case report and review of the literature. Acta Dermatovenereol Alp Pannonica Adriat. 2021;30(1):49–51. DOI: 10.15570/actaapa.2021.12.
 - Kilian K, Pötschke J, Gauglitz G. Nebenwirkungen und komplikationen von lasern und intense pulsed light. J Aesthet Chir. 2020;13(3):111–22. DOI: 10.1007/s12631-020-00230-0.
 - Kelly JW, Shen S, Pan Y, Dowling J, McLean CA. Postexcisional melanocytic regrowth extending beyond the initial scar: A novel clinical sign of melanoma. Br J Dermatol. 2014;170(4):961–4. DOI: 10.1111/bjd.12780.
 - Helm TN, Helm MF, Helm KF. Melanoma arising in a persistent nevus: Melanoma where ‘pseudomelanoma’ is expected. JAAD Case Reports. 2021;12:5–7. DOI: 10.1016/j.jidcr.2021.03.045.
 - Blum A, Hofmann-Wellenhof R, Marghoob AA, Argenziano G, Cabo H, Carrera C et al. Recurrent melanocytic nevi and melanomas in dermoscopy: Results of a multicenter study of the International Dermoscopy Society. JAMA Dermatol. 2014;150(2):138–45. DOI: 10.1001/jamadermatol.2013.6908.
 - Kim CC, Berry EG, Marchetti MA, Swetter SM, Lim G, Grossman D et al. Risk of subsequent cutaneous melanoma in moderately dysplastic nevi excisionally biopsied but with positive histologic margins. JAMA Dermatol. 2018;154(12):1401–8. DOI: 10.1001/jamadermatol.2018.3359.

Информация об авторах

Татьяна Анатольевна Гайдина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры дерматовенерологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, врач-дерматовенеролог Федерального центра мозга и нейротехнологий ФМБА России.

Ольга Игоревна Пацап – кандидат медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением Федерального центра мозга и нейротехнологий ФМБА России, научный сотрудник Научно-образовательного ресурсного центра «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа» Российского университета дружбы народов.

Антон Сергеевич Дворников – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Author information

Tatiana A. Gaydina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Dermatology Department, Pirogov Russian Scientific Research Medical University; Dermatologist, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of FMBA of Russia.
<https://orcid.org/0000-0001-8485-3294>

Olga I. Patsap – Cand. Sci. (Med.), Head of Pathology Department, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of FMBA of Russia; Researcher, Scientific and Educational Resource Center “Innovative Technologies of Immunophenotyping, Digital Spatial Profiling and Ultrastructural Analysis”, RUDN University.
<https://orcid.org/0000-0003-4620-3922>

Anton S. Dvornikov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Dermatology Department, Medical Faculty, Pirogov Russian Scientific Research Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-0429-3117>

Морфологическая характеристика миокарда при LAMP2-кардиомиопатии

Н.В. Мотина¹, Н.Г. Веселовская^{1,2}, Г.И. Костюченко³, А.В. Отт^{1,2}, В.Я. Гервальд¹, Ю.Г. Мотин^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул, Россия

² КГБУЗ Алтайский краевой кардиологический диспансер, Барнаул, Россия

³ КГБУЗ Краевая клиническая больница, Барнаул, Россия

Резюме. Представлено клиничко-морфологическое наблюдение случая поздней диагностики LAMP2-кардиомиопатии (болезни Данона) у женщины 44 лет. LAMP2-кардиомиопатия обусловлена нарушениями процессов аутофагии в связи с дефицитом лизосомассоциированного мембранного белка 2 (LAMP2) в кардиомиоцитах. Это редкое и сложное для диагностики заболевание, наследующееся сцепленно с X-хромосомой. Характерная клиническая триада признаков включает поражение миокарда с развитием гипертрофической LAMP2-кардиомиопатии, интеллектуальные нарушения и скелетную миопатию. Неблагоприятным прогностическим фактором и основной причиной смерти пациентов является развитие кардиомиопатии. Однако часто нарушение процессов аутофагии и лизосомальное накопление гликогена в кардиомиоцитах могут оставаться нераспознанными как причина развития гипертрофической кардиомиопатии. В статье кратко освещены вопросы этиологии и эпидемиологии заболевания, изложены клинические признаки, результаты морфологического исследования с акцентом на прижизненных ультраструктурных особенностях перестройки миокарда. Использовались данные истории болезни, результаты лабораторно-инструментальных исследований, морфологического исследования эндомиокардиальных биоптатов на светооптическом и электронномикроскопическом уровнях.

Ключевые слова: болезнь Данона, гипертрофическая кардиомиопатия, LAMP2, электронная микроскопия

Для корреспонденции: Юрий Григорьевич Мотин. E-mail: ygmotin@gmail.com

Для цитирования: Мотина Н.В., Веселовская Н.Г., Костюченко Г.И., Отт А.В., Гервальд В.Я., Мотин Ю.Г. Морфологическая характеристика миокарда при LAMP2-кардиомиопатии. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):53–58. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.53-58.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 15.04.2022. Получена после рецензирования 08.06.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Morphological features of the myocardium in LAMP2-cardiomyopathy

N.V. Motina¹, N.G. Veselovskaya^{1,2}, G.I. Kostyuchenko³, A.V. Ott^{1,2}, V.Ya. Gervald¹, Yu.G. Motin^{1,3}

¹ Altai State Medical University, Barnaul, Russia

² Altai Regional Cardiology Dispensary, Barnaul, Russia

³ Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia

Abstract. We present a clinical and morphological case study of a delayed LAMP2-cardiomyopathy (Danon disease) in a 44-year-old woman. LAMP2-cardiomyopathy is caused by impaired autophagy processes due to lysosome-associated membrane protein-2 (LAMP-2) deficiency in cardiomyocytes. This is a rare and diagnostically challenging condition inherited in an X-linked dominant pattern. A medical triad includes myocardial damage with hypertrophic LAMP2-cardiomyopathy, intellectual disability, and skeletal myopathy, the first one being the most significant prognostic factor and the main cause of death in these patients. However, autophagy disturbance and lysosomal glycogen accumulation in cardiomyocytes often remain unrecognized as the cause of hypertrophic cardiomyopathy. The report briefly describes disease etiology and epidemiology and outlines the clinical findings of the morphological study focusing on intravital ultrastructural features of structural changes in the myocardium. We provide data from the patient's history, the results of laboratory and imaging studies, as well as endomyocardial biopsy examination at the light-optical and electron microscopic levels.

Keywords: Danon disease, hypertrophic cardiomyopathy, LAMP2, electron microscopy

Corresponding author: Yuri G. Motin. E-mail: ygmotin@gmail.com

For citation: Motina N.V., Veselovskaya N.G., Kostyuchenko G.I., Ott A.V., Gervald V.Ya., Motin Yu.G. Morphological features of the myocardium in LAMP2-cardiomyopathy. Clin. exp. morphology. 2022; 11(4):53–58 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.53-58.

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

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

Received 15.04.2022. **Received in revised form** 08.06.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Гипертрофическая LAMP2-кардиомиопатия – тяжелое, неуклонно прогрессирующее заболевание, связанное с метаболическими нарушениями, обусловленными первичным дефицитом важного структурного компонента лизосомальных мембран лизосомассоциированного мембранного белка 2 (LAMP2). Патология впервые описана М. Даноном (M. Danon) в 1981 году на примере гистологического исследования мышечных тканей двух мальчиков, страдающих кардиомиопатией, скелетной миопатией и отставанием в умственном развитии [1]. В последующем была обнаружена связь между развитием заболевания и мутацией в гене *LAMP2*, что позволило предположить нарушение процессов аутофагии как основу патогенеза болезни [2]. Накопление в миоцитах аутофагоцитарного материала и гликогена вследствие дисфункции белка LAMP2 служит причиной увеличения размеров клеток, их гипертрофии, развития некроза кардиомиоцитов и фибрирования миокарда [3]. Наследование доминантное, сцеплено с X-хромосомой, поэтому клиническая картина у мужчин и женщин отличается [4]. Для мужчин характерны ранняя манифестация и более тяжелое течение заболевания. Клиническая картина болезни у женщин часто характеризуется стертой клинической симптоматикой, неполной выраженностью классической триады заболевания, что, вероятно, обусловлено гетерозиготностью и поздней пенетрантностью. Скелетная миопатия и когнитивные нарушения у женщин встречаются намного реже, чем у мужчин, что в ряде случаев затрудняет диагностику, особенно при невозможности выполнения генетического исследования.

Распространенность болезни Даноно в популяции в настоящее время достоверно неизвестна. Это связано как с редкостью заболевания и сложностью диагностики, так и с тем, что причина гипертрофии миокарда как результат мутации в гене *LAMP2* может остаться нераспознанной. По данным литературы, мутации *LAMP2* обнаруживаются у 2–6% пациентов с гипертрофической кардиомиопатией [4], поэтому, предположительно, минимальная распространенность болезни Даноно в европейской популяции может достигать от 2 до 6 случаев на 100 000 населения [5]. При этом указывается на необходимость учитывать возможную гиподиагностику указанного состояния у пациентов, страдающих гипертрофической кардиомиопатией, особенно у женщин при стертой клини-

ческой картине заболевания [6]. В отечественной литературе публикации результатов прижизненного морфологического исследования миокарда пациентов с LAMP2-кардиомиопатией встречаются нечасто, поэтому мы посчитали возможным представить собственный опыт наблюдения гипертрофической кардиомиопатии, связанной с мутацией в гене *LAMP2*.

Клиническое наблюдение

Пациентка 44 лет. Из анамнеза известно, что с детства беспокоили приступы учащенного сердцебиения, отец умер внезапно, во сне, в 60 лет, у старшего сына в возрасте 1,5 года была диагностирована дилатационная кардиомиопатия, далее верифицирована болезнь Даноно, мальчик умер в 16 лет вследствие прогрессирования сердечной недостаточности. В возрасте 39 лет у пациентки при трансторакальном эхокардиографическом обследовании (Эхо-КГ) выявлена гипертрофия миокарда левого желудочка с утолщением межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка до 13 мм, характер нарушений ритма не верифицирован. Через 4 года стали беспокоить частые (до 3–4 раз в неделю) пароксизмы нарушения ритма. По результатам ЭКГ впервые была верифицирована пароксизмальная форма фибрилляции/трепетания предсердий, проведена радиочастотная абляция устьев правых и левых легочных вен, зоны предсердной тахикардии, вага-трикуспидального перешейка.

В возрасте 44 лет у пациентки усилилась одышка, появилось ортопноэ. В связи с развившейся клиникой декомпенсации хронической сердечной недостаточности женщина была госпитализирована в отделение некоронарогенной патологии миокарда Алтайского краевого кардиологического диспансера. По результатам трансторакальной эхокардиографии обнаружена дилатация левых отделов сердца: расширение левого предсердия до 46 мм, конечно-диастолический размер левого желудочка составил 56 мм. Величина фракции выброса левого желудочка – 45%, систолическое давление в правом желудочке – 48 мм рт. ст. Наблюдались признаки гипертрофии миокарда левого желудочка с утолщением межжелудочковой перегородки до 11 мм, задней стенки левого желудочка до 11 мм, индекс массы миокарда левого желудочка составил 133 г/м². С учетом анамнеза жизни, клинической картины (гипертрофический фенотип по Эхо-КГ в течение 5 лет, дилатация камер сердца, отсутствие типичных при-

знаков гипертрофической кардиомиопатии по ЭКГ, нарушения ритма) образцы биологического материала пациентки были направлены на молекулярно-генетическое исследование, выполнена эндомикардиальная биопсия с целью исключения болезни накопления миокарда.

После изучения биопсийного материала в диссекционном микроскопе были отобраны один фрагмент для электронномикроскопического исследования, два фрагмента для проведения прямого иммунофлуоресцентного исследования с использованием антител к иммуноглобулинам М, G, C_{3c}, C_{4d}, λ- и κ-легким цепям, фибриногену. Оставшийся материал после фиксации в 10% растворе формалина был обезвожен и залит в парафин. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Массону, конго красным, ставили PAS-реакцию. Для электронномикроскопического исследования образцы тканей фиксировали в 3% растворе глутарового альдегида, приготовленном на фосфатном буфере (pH 7,2), с дофиксацией в 1% растворе

OsO₄, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключили в эпон. Из полученных блоков изготовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрасили толуидиновым синим, изучили под световым микроскопом и выбрали необходимые участки тканей для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получили ультратонкие срезы толщиной 55 нм на ультратоме Leica EM UC7 (Leica, Германия), контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата, цитратом свинца и изучили в электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 120 кВ с последующим фотографированием при увеличении от ×1985 до ×20 000.

При гистологическом исследовании эндомикардиальных биоптатов определялся ровный тонкий эндотокд без выраженных признаков склерозирования. В миокарде наблюдалась картина гипертрофии кардиомиоцитов: неравномерное увеличение размеров клеток до 35–40 мкм, гиперхромные ядра с изрезанными

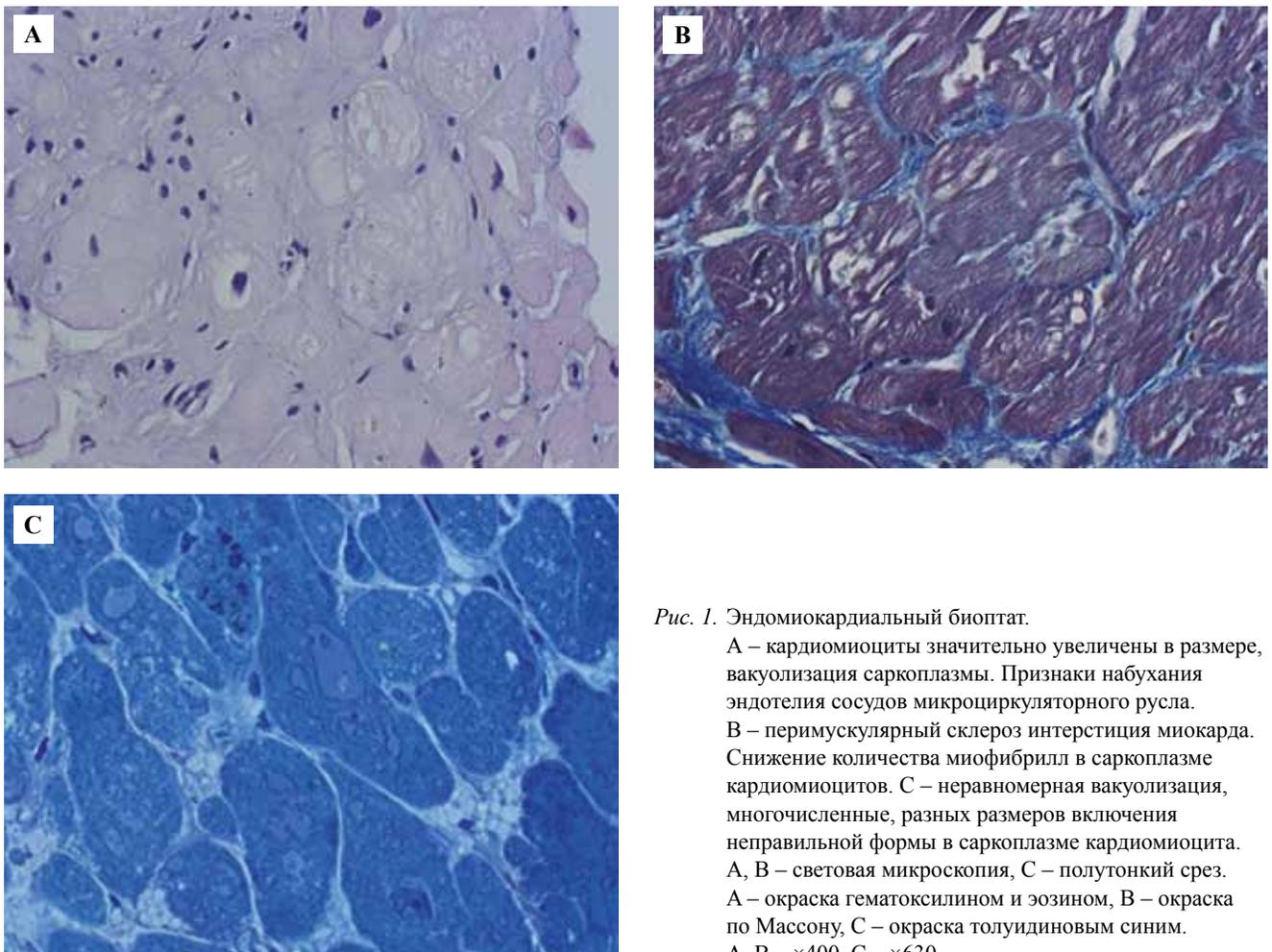


Fig. 1. Endomyocardial biopsy.

A – enlarged cardiomyocytes, extensive vacuolar changes in the sarcoplasm. Swelling of the endothelial cytes in the microvasculature. B – stromal fibrosis between cardiomyocytes. Loss of myofibrils in cardiomyocyte sarcoplasm. C – irregular vacuolization, numerous sarcoplasmic inclusions of different shapes and sizes in a cardiomyocyte. A, B – light microscopy, C – semi-thin section. A – H&E stain, B – Masson stain, C – toluidine blue stain. A, B – ×400, C – ×630

Рис. 1. Эндомикардиальный биоптат.

А – кардиомиоциты значительно увеличены в размере, вакуолизация саркоплазмы. Признаки набухания эндотелия сосудов микроциркуляторного русла. В – перимускулярный склероз интерстиция миокарда. Снижение количества миофибрилл в саркоплазме кардиомиоцитов. С – неравномерная вакуолизация, многочисленные, разных размеров включения неправильной формы в саркоплазме кардиомиоцита. А, В – световая микроскопия, С – полутонкий срез. А – окраска гематоксилином и эозином, В – окраска по Массону, С – окраска толуидиновым синим. А, В – ×400, С – ×630

контурами, формирование отростчатых кардиомиоцитов, одиночные бинуклеарные клетки. Отмечались просветление перинуклеарной зоны с накоплением липофусцина, оттеснение сократительных элементов на периферию с формированием в отдельных случаях клеток с «оптически пустой» саркоплазмой, значительная неравномерная вакуолизация саркоплазмы (рис. 1 А). Саркоплазма кардиомиоцитов окрашивалась при ШИК-реакции неравномерно, в отдельных вакуолях выявлялись фрагменты ШИК-позитивного содержимого. В интерстиции отмечены рыхлая лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью одиночных сегментоядерных лейкоцитов, явления отека, мелкоочаговый склероз преимущественно по перимускулярному типу (рис. 1 В). В элементах микроциркуляторного русла на светооптическом уровне наблюдались набухание ядер эндотелия, задержка в просвете капилляров одиночных лейкоцитов.

При выполнении прямого иммунофлуоресцентного исследования биоптатов отмечена картина, схожая с повреждением миокарда при аутоиммунных процессах [7]: наблюдалась мелкогранулярная фиксация IgM и C3_c в зоне до 20–30% капилляров, фиксация C3_c субэндокардиально очагово по сарколемме и саркоплазме отдельных кардиомиоцитов.

При исследовании полутонких срезов фрагментов эндомикардиального биоптата, взятых для электронномикроскопического исследования, обратили на себя внимание неравномерная вакуолизация саркоплазмы увеличенных в размерах кардиомиоцитов, снижение количества сократительных элементов, наличие плотных цитоплазматических включений разного размера (рис. 1 С).

Электронномикроскопическое исследование показало накопление под сарколеммой кардиомиоцитов многочисленных включений гликогена, перинуклеарно скопление липофусцина, расширение элементов саркоплазматической сети, аппарата Гольджи. Наблюдались снижение количества сократительных элементов, оттеснение их на периферию, признаки их дезорганизации. В саркоплазме между миофиламентами располагались многочисленные рибосомы, одиночные вторичные лизосомы с неоднородным электронноконтрастным содержимым. Определялись группы митохондрий с явлениями набухания, снижением плотности матрикса, нарушением ориентации крист, их отеком и вакуолизацией, фрагментацией, деструкцией мембран. В саркоплазме наблюдались многочисленные разные по размеру вакуоли, содержащие аутофагоцитарные элементы и гранулы гликогена (рис. 2 А). Преимущественно в периферических отделах кардиомиоцитов отмечено формирование электронноплотных миелиноподобных структур, образованных концентрически расположенными мембранными элементами (рис. 2 В). Локально определялись нарушение целостности сарколеммы, разволокнение, смазанность структуры базальной мембраны. Наблюдалось значительное набухание эндотелия капилляров интерстиция, в отдельных капиллярах вплоть до смыкания просвета, со снижением количества везикулярных элементов и органелл цитоплазмы (рис. 2 С).

В результате молекулярно-генетического исследования образцов биологического материала пациентки методом прямого секвенирования по Сэнгеру был обнаружен генетический вариант *NM_002294.3:c.893_923del*

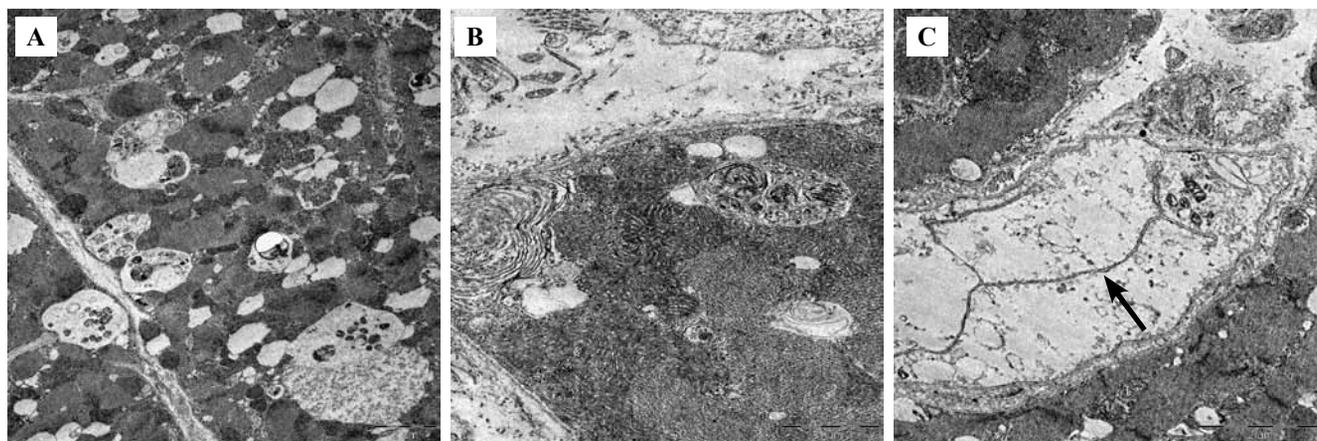


Рис. 2. Субэндокардиальные участки миокарда правого желудочка.

А – многочисленные аутофагоцитарные включения в саркоплазме кардиомиоцитов. В – периферические участки саркоплазмы кардиомиоцита содержат формирующееся миелиноподобное образование и включение с аутофагоцитарным материалом. С – значительное набухание цитоплазмы эндотелиоцита капилляра, окклюзия просвета (стрелка).

Электроннограммы, контрастирование уранил ацетатом и цитратом свинца. А – $\times 1985$, В – $\times 6300$, С – $\times 4000$

Fig. 2. Subendocardial areas of the right ventricle myocardium.

А – numerous intracytoplasmic vacuoles containing autophagic material in cardiomyocytes. В – cardiomyocyte sarcoplasm containing an emerging myelin-like formation and inclusion with autophagocytic material at the periphery. С – capillary with marked endothelial swelling, occlusion of the lumen (arrow). Transmission electron microscopy, uranyl acetate, and lead citrate contrast. А – $\times 1985$, В – $\times 6300$, С – $\times 4000$

(*p.E298Afs*38*) в гетерозиготном состоянии последовательности гена *LAMP2*.

По совокупности клинико-анамнестических данных, результатов молекулярно-генетического, морфологического исследования, включавшего иммунофлуоресцентное и электронномикроскопическое исследование, установлена метаболическая причина гипертрофии миокарда, ранее клинически не распознанная, с морфологической картиной *LAMP2*-кардиомиопатии и поставлен клинический диагноз «Семейная генетически детерминированная кардиомиопатия (болезнь Данона). Хроническая сердечная недостаточность ПА стадии, III функциональный класс».

Обсуждение

Развитие гипертрофической кардиомиопатии является основным морфологическим проявлением болезни Данона и обусловлено отложением в кардиомиоцитах и их лизосомах аномальных продуктов метаболизма. Клинические признаки заболевания практически не отличаются от других форм гипертрофических кардиомиопатий. Обычно *LAMP2*-кардиомиопатия проявляется значительной концентрической симметричной гипертрофией миокарда с увеличением толщины стенки левого желудочка (по данным литературы, до 29–65 мм) [5].

Тем не менее описанное наблюдение характеризуется поздним дебютом заболевания, стертой клинической картиной и неявными результатами дополнительных методов обследования, отсутствием скелетной миопатии и когнитивных нарушений. При этом морфологическая перестройка миокарда соответствовала типичным признакам *LAMP2*-кардиомиопатии: наблюдались выраженная гипертрофия кардиомиоцитов, наличие цитоплазматических вакуолей разного размера и фиброз интерстиция. Электронномикроскопическое исследование позволило выявить в саркоплазме кардиомиоцитов многочисленные включения аутофагоцитарного материала и гликогена, признаки дезорганизации миофибрилл, что также соответствует морфологической картине болезни Данона. Однако в большинстве исследований не описывается наличие миелиноподобных структур, которые обнаружили мы под сарколеммой кардиомиоцитов. Вероятно, формирование этих образований связано с развивающимся аутофагоцитозом и деградацией аутофагоцитарных элементов вследствие частичного сохранения функций мутантных *LAMP2* белков [8], что подтверждается обнаружением в саркоплазме вторичных лизосом.

В описываемом случае обращает на себя внимание реакция эндотелия капилляров интерстиция, проявляющаяся выраженным набуханием (вплоть до окклюзии просвета), снижением количества органелл и транспортных везикул. В последние годы показано возможное развитие микроангиопатии при *LAMP2*-кардиомиопатии в связи с нарушением процессов аутофагии. Механизм этих изменений неясен, уста-

новлено, что нормальное функционирование лизосом и развитие процессов аутофагоцитоза необходимы для поддержания архитектоники и функционирования кровеносных сосудов. При этом большинство авторов связывают развитие микроангиопатии с первичным изменением в гладкомышечных клетках, обуславливающих гипертрофию меди в первую очередь мелких артериол [9]. Вероятно, наблюдавшаяся нами перестройка микроциркуляторного русла миокарда может обуславливать нарушение трофики и тем самым усугублять повреждение кардиомиоцитов. Подтверждением этому может выступать наблюдавшаяся при иммуногистохимическом исследовании очаговая фиксация фрагмента комплемента C3c по сарколемме и в саркоплазме отдельных кардиомиоцитов, возможно, обусловленная их ишемическим повреждением [10]. В связи с этим представляется перспективным дальнейшее изучение реакции эндотелия капилляров интерстиция при развитии метаболической гипертрофической кардиомиопатии на фоне мутации в гене *LAMP2*.

Заключение

Представлен редкий случай позднего клинического выявления болезни Данона (*LAMP2*-кардиомиопатии), морфологически проявлявшейся накоплением в саркоплазме кардиомиоцитов аутофагоцитарного материала, гликогена, осмиофильных миелиноподобных структур и выраженным набуханием эндотелия кровеносных капилляров интерстиция. Данное наблюдение наглядно демонстрирует практическую значимость ультраструктурного исследования эндомиокардиального биоптата для определения истинной формы метаболической гипертрофии и оценки степени морфологической перестройки миокарда.

Литература/References

1. *Danon MJ, Oh SJ, DiMauro S, Manaligod JR, Eastwood A, Naidu S et al.* Lysosomal glycogen storage disease with normal acid maltase. *Neurology*. 1981;31(1):51–7. DOI: 10.1212/wnl.31.1.51.
2. *Nishino I, Fu J, Tanji K, Yamada T, Shimojo S, Koori T et al.* Primary *LAMP-2* deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). *Nature*. 2000;406(6798):906–10. DOI: 10.1038/35022604.
3. *Roos JCP, Daniels MJ, Morris E, Hyry HI, Cox TM.* Heterogeneity in a large pedigree with Danon disease: Implications for pathogenesis and management. *Mol Genet Metab*. 2018;123(2):177–83. DOI: 10.1016/j.ymgme.2017.06.008.
4. *Cheng Z, Fang Q.* Danon disease: Focusing on heart. *J Hum Genet*. 2012;57(7):407–10. DOI: 10.1038/jhg.2012.72.
5. *Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г. Сидоренко И.В., Давыденко О.Г.* Болезнь Данона: редко выявляемое системное заболевание с *LAMP2*-кардиомиопатией. *Российский кардиологический журнал*. 2017;10(150):93–99. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-10-93-99.

- Vaykhanskaya TG, Sivitskaya LN, Danilenko NG, Sidorenko IV, Davydenko OG.* Danon disease: a rare systemic disorder with the LAMP2-cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology.* 2017;10(150):93–99 (In Russ.). DOI: 10.15829/1560-4071-2017-10-93-99.
6. *Sugie K, Komaki H, Eura N, Shiota T, Onoue K, Tsukaguchi H et al.* Nationwide survey on Danon disease in Japan. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3507. DOI: 10.3390/ijms19113507.
7. *Благова О.В., Недоступ А.В., Коган Е.А.* Болезни миокарда и перикарда: от синдромов к диагнозу и лечению. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 884 с.
- Blagova OV, Nedostup AV, Kogan EA.* Myocardial and pericardial diseases: from syndromes to diagnosis and treatment. Moscow: GEOTAR-Media, 2019. 884 p. (In Russ.).
8. *Hariri M, Millane G, Guimond MP, Guay G, Dennis JW, Nabi IR.* Biogenesis of multilamellar bodies via autophagy. *Mol Biol Cell.* 2000;11(1):255–68. DOI: 10.1091/mbc.11.1.255.
9. *Nguyen HT, Noguchi S, Sugie K, Matsuo Y, Nguyen CTH, Koito H et al.* Small-vessel vasculopathy due to aberrant autophagy in LAMP-2 deficiency. *Sci Rep.* 2018;8(1):3326. DOI: 10.1038/s41598-018-21602-8.
10. DV Miller, MP Revelo (eds.). *Diagnostic pathology: Cardiovascular.* 2nd ed. Salt Lake City: Elsevier, 2018. 552 p.

Информация об авторах

Наталья Владимировна Мотина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологии, гистологии, эмбриологии и цитологии Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Надежда Григорьевна Веселовская – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кардиологическим отделением № 2 Алтайского краевого кардиологического диспансера, профессор кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Геннадий Иванович Костюченко – доктор медицинских наук, руководитель отдела лабораторной диагностики краевой клинической больницы.

Анна Владимировна Отт – кандидат медицинских наук, врач-кардиолог Алтайского краевого кардиологического диспансера, ассистент кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Виталий Яковлевич Гервальд – кандидат медицинских наук, доцент кафедры судебной медицины имени профессора В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Юрий Григорьевич Мотин – доктор медицинских наук, доцент, врач-патологоанатом краевой клинической больницы, профессор кафедры судебной медицины имени профессора В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Author information

Nataliya V. Motina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Biology, Histology, Embryology and Cytology Department, Altai State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-1799-3390>

Nadezhda G. Veselovskaya – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Cardiology Department No. 2, Altai Regional Cardiology Dispensary; Professor, Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery with APE course, Altai State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-8654-7020>

Gennadiy I. Kostyuchenko – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Laboratory Diagnostics, Regional Clinical Hospital.
<https://orcid.org/0000-0002-4435-6290>

Anna V. Ott – Cand. Sci. (Med.), Cardiologist, Altai Regional Cardiology Dispensary; Assistant, Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery with APE course, Altai State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0002-7248-9867>

Vitaly Ya. Gervald – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, V.N. Kryukov Department of Forensic Medicine and Anatomical Pathology with APE course, Altai State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0001-8636-9025>

Yuri G. Motin – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathologist, Regional Clinical Hospital, Professor, V.N. Kryukov Department of Forensic Medicine and Anatomical Pathology with APE course, Altai State Medical University.
<https://orcid.org/0000-0003-4282-6401>

Поражение миокарда у пациентов с COVID-19: серия аутопсийных случаев

Ю.А. Ермола, А.А. Галышевская, А.А. Давыдова,
А.А. Бекетов, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов

ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», Симферополь, Россия

Резюме. *Введение.* Морфологические данные о повреждении сердца при тяжелом течении инфекции, вызванной SARS-CoV-2, ограничены. Хотя клинико-морфологические паттерны поражения сердца при данной инфекции описаны и включают ишемическое поражение миокарда, в том числе острый коронарный синдром и острый миокардит, преобладающие типы повреждения и его последствия до сих пор остаются предметом дискуссий. Цель исследования – оценка морфологических особенностей поражения миокарда у пациентов с COVID-19 с использованием описательного гистологического анализа, а также иммуногистохимического метода (CD45) для подтверждения воспалительной инфильтрации миокарда.

Материалы и методы. В исследовании с использованием описательного гистологического и иммуногистохимического методов проведен анализ образцов миокарда левого желудочка, полученных во время посмертного патологоанатомического исследования 48 пациентов в критическом состоянии с COVID-19, скончавшихся от пневмонии, ассоциированной с SARS-CoV-2.

Результаты. Выявлены несколько гистопатологических паттернов COVID-19-ассоциированного поражения миокарда, включая явления выраженного ишемического повреждения миокарда (25% случаев), и изменения воспалительного характера, расценивающиеся в качестве пограничного миокардита (18,75% случаев). Как другие значимые изменения в миокарде выступали явления тромбоза сосудов микроциркуляторного русла.

Заключение. Полученные результаты представляют интерес для дальнейшего изучения поражений сердечно-сосудистой системы при COVID-19 и могут способствовать разработке новых стратегий ведения пациентов с тяжелым течением COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, сердце, ишемия, миокардит

Для корреспонденции: Максим Андреевич Кривенцов. E-mail: maksimkgmu@mail.ru

Для цитирования: Ермола Ю.А., Галышевская А.А., Давыдова А.А., Бекетов А.А., Макалиш Т.П., Кривенцов М.А. Поражение миокарда у пациентов с COVID-19: серия аутопсийных случаев. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(4):59–69. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.59-69.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030», № 075-15-2021-1323.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 18.08.2022. Получена после рецензирования 12.09.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Myocardial lesions in patients with COVID-19: autopsy case series

Yu.A. Yermola, A.A. Galyshevskaya, A.A. Davydova,
A.A. Beketov, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russia

Abstract. *Introduction.* Morphological data on SARS-CoV-2-associated heart damage and its mechanisms are rather limited. However, clinical and morphological features of myocardial lesions in COVID-19 patients have been described and include myocardial ischemia, acute coronary syndrome, and acute myocarditis. The prevailing features of myocardial lesions and their consequences are still controversial. The aim of our research was to evaluate the morphological features of myocardial lesions in patients with severe COVID-19, using routine histological examination and immunohistochemistry (CD45) to confirm myocardial inflammatory infiltration.

Materials and methods. We analyzed samples of the left ventricular myocardium obtained during autopsy examination of 48 patients with severe COVID-19 who died from SARS-CoV-2-associated pneumonia. We used histological description and immunohistochemical methods.

Results. The results revealed several histopathological features of COVID-19-associated myocardial lesions, including acute ischemia (25% of cases) and mild inflammatory changes termed borderline myocarditis (18.75% of cases). Other significant findings in the myocardium included microcirculatory vessel thrombosis.

Conclusion. The study confirms the existing data on damage to myocardium in severe COVID-19. However, further studies are warranted. It may contribute to the development of new management strategies for severe COVID-19 patients.

Keywords: SARS-CoV-2, heart, ischemia, myocarditis

Corresponding author: Maxim A. Kriventsov. E-mail: maksimkgmu@mail.ru

For citation: Yermola Yu.A., Galyshevskaya A.A., Davydova A.A., Beketov A.A., Makalish T.P., Kriventsov M.A. Myocardial lesions in patients with COVID-19: autopsy case series. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):59–69 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.59-69.

Funding. This study was carried out within the framework of the Priority 2030 program of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, No. 075-15-2021-1323.

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

Received 18.08.2022. **Received in revised form** 12.09.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), начавшаяся в декабре 2019 года в городе Ухань, провинция Хубэй (Китай) [1], несмотря на широкомасштабные кампании вакцинации по всему миру, обновила антирекорды по заболеваемости и смертности в разных странах. По данным ВОЗ, общее число официально зарегистрированных случаев заражения SARS-CoV-2 составляет более 260 млн, из них более 5 млн летальных. SARS-CoV-2, так же как и SARS-CoV, имеет ряд характерных признаков, основным из которых является способность связываться с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) на клеточных мембранах [2, 3], что делает возможным прямое вирусное цитопатическое повреждение различных клеток, экспрессирующих этот рецептор. И действительно, в некоторых недавних исследованиях с использованием методов электронной микроскопии и иммуногистохимии было показано, что вирус оказывает прямое повреждающее действие на многие органы и ткани, включая сердце [4, 5].

Клинико-морфологические паттерны повреждения сердца включают в себя в основном острое ишемическое повреждение миокарда и острый лимфоцитарный миокардит. Прогрессирующая сердечная недостаточность и кардиогенный шок наблюдаются вплоть до 10% случаев среди всех пациентов с COVID-19 и до 41% случаев при тяжелом течении инфекции [6, 7]. Тем не менее доступная информация о повреждении сердца при COVID-19 часто противоречива в отношении преобладающих морфологических паттернов и их исхода. Невьясненной остается и распространенность SARS-CoV-2-ассоциированного миокардита в разных субпопуляциях, таких как пожилые люди или пациенты с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. На основании изменений со стороны ЭКГ, повышения уровня тропонина в сыворотке крови и данных

магнитно-резонансной томографии сердца в нескольких клинических случаях у пациентов с COVID-19 был описан острый вирусный миокардит [8–11]. Вместе с тем для подтверждения диагноза миокардита необходимо патоморфологическое обнаружение лимфоцитарной и/или макрофагальной (CD3⁺/CD68⁺/CD45⁺ клеток) воспалительной инфильтрации с поражением кардиомиоцитов (острый миокардит) или без такового (пограничный миокардит) [12, 13]. По данным посмертного исследования 21 пациента, умершего от COVID-19, лимфоцитарный миокардит был подтвержден в 14% случаев [14], в то время как в рамках другого аналогичного исследования, включавшего также 21 случай, миокардит выявлен не был [15]. По данным исследований на основании изучения аутопсийных материалов, полученных от пациентов с тяжелой SARS-CoV-2-ассоциированной инфекцией [16, 17], частота миокардита у пациентов с COVID-19 варьирует в пределах от 4,5% до 7%. Большая часть имеющихся данных о миокардите при COVID-19 основана на клиническом наблюдении без патоморфологического подтверждения или на описании ограниченного, относительно небольшого числа патологоанатомических случаев.

При рассмотрении вопросов вовлечения миокарда в патологический процесс при COVID-19 следует учитывать ряд различных потенциальных механизмов, в том числе (1) прямой и непрямой вирусопосредованный цитопатический эффект; (2) повреждение эндотелия; (3) воспаление, в том числе в качестве проявления системной воспалительной реакции; (4) системные эффекты, опосредованные ренин-ангиотензин-альдостероновой системой [18]. Также необходимо учитывать имевшие место сопутствующие и фоновые сердечно-сосудистые заболевания, эндокринные и метаболические нарушения.

Несмотря на некоторую неопределенность в отношении преобладающих паттернов поражения сердца

на фоне COVID-19, применительно к разным популяциям пациентов было предложено несколько патогенетических механизмов повреждения миокарда, связанного с SARS-CoV-2. Во-первых, на этапе проникновения вируса в клетки-мишени ключевую роль играет взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с рецептором ACE2, который экспрессируется, в том числе, в тканях легких и сердца. Рецептор ACE2, расположенный на мембранах перитцитов, эндотелия сосудов, гладкомышечных клеток, фибробластов и кардиомиоцитов [19], обеспечивает проникновение вируса с развитием цитопатического эффекта и воспалительного ответа [20]. Вторым механизмом повреждения миокарда является высокий уровень провоспалительных цитокинов [21]. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 обнаруживаются повышенные уровни гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), интерферониндуцируемого белка-10 (IP-10), моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP-1) и фактора некроза опухоли α (TNF- α) в плазме крови, что указывает на взаимосвязь между уровнем цитокинов и тяжестью течения заболевания [22]. Этот иммунный дисбаланс представляет собой важный механизм повреждения миокарда и развития в последующем полиорганной недостаточности. Еще одним механизмом повреждения миокарда является ишемия. Повышенное потребление кислорода миокардом из-за системной инфекции в сочетании с нарастающей гипоксией из-за дыхательной недостаточности приводит к ишемизации миокарда, наиболее заметной при наличии предшествующих хронических сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца и сердечная недостаточность [23]. Кроме того, потенциальной кардиотоксичностью обладают и используемые для лечения COVID-19 лекарственные препараты, такие как лопинавир или дексаметазон [24]. Еще одним патогенетическим фактором, усугубляющим повреждение миокарда, может быть нарушение коагуляции вследствие системного повреждения эндотелия с развитием тромбозов и кровоизлияний [25]. Таким образом, патогенез поражения миокарда на фоне SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции сложен и может включать множество факторов.

Целью данного описания серии случаев является предоставление дополнительной информации о распространенных гистопатологических типах поражения миокарда у пациентов в критическом состоянии с COVID-19, для лучшего понимания патологического процесса, дальнейшего прогнозирования лечебной тактики, определения критериев тяжести заболевания, раннего выявления осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы и поиска эффективных методов профилактики, лечения и реабилитации таких пациентов.

Материалы и методы

Исследование проведено с использованием образцов миокарда левого желудочка, взятых в рамках стандартного посмертного патоморфологического

исследования 48 пациентов, скончавшихся от SARS-CoV-2-ассоциированной пневмонии. Взятие материала осуществлялось, исходя из макроскопических изменений в миокарде левого желудочка, если таковые имели место. Согласно действующим рекомендациям по контролю и профилактике новой коронавирусной инфекции, диагноз у всех пациентов был подтвержден на основании комплекса анализов методом ПЦР на РНК вируса SARS-CoV-2, результатов рентгенологического исследования органов грудной клетки и клинической картины. Все пациенты на момент смерти находились в отделении реанимации. Патологоанатомические исследования и взятие образцов осуществлялись в период с февраля по май 2021 года. Данное исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и одобрено локальным комитетом по биоэтике (№ А16-116072810135-5 от 20 января 2021 года). Патологоанатомические вскрытия проводились в рамках общепринятой медицинской практики, регламентированной Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ (в редакции от 02.07.2021), что исключает необходимость получения информированного согласия пациентов при жизни или их родственников после смерти пациента, без нарушения прав умерших пациентов или их ближайших родственников. Все персональные данные умерших пациентов были обезличены.

Фрагменты миокарда левого желудочка фиксировали в нейтральном забуференном 10% формалине в течение 24–48 часов с последующей гистологической обработкой с использованием гибридного гистологического процессора Logos (Milestone Medical, Италия) и модуля Leica EG1150 (Leica Biosystems, Германия). Гистологические срезы (~4 мкм) были получены из фиксированных в 10% формалине и залитых в парафин блоков с использованием автоматического ротационного микротомы Leica RM2255 (Leica Biosystems, Германия) и окрашены гематоксилином и эозином для проведения описательного гистологического анализа.

Для подтверждения наличия клеток воспалительного инфильтрата проводили иммуногистохимическое окрашивание (CD45). Окрашивание осуществляли с использованием полуавтоматического иммуногистохимического BondMax (Leica Biosystems, Германия). Протокол окрашивания включал депарафинизацию, демаскирование антигена с использованием раствора Bond Epitope Retrieval 2 (Leica Biosystems, Германия), pH 9, в течение 20 минут при температуре +96°C, блокирование пероксидазной активности, инкубацию с антителом в течение 15 минут при комнатной температуре и визуализацию с помощью системы Bond Polymer Refine Detection (Leica Biosystems, Германия). Использовали мышинные моноклональные антитела IgG к CD45 (X16/99, RTU, Leica Biosystems, Великобритания). Для лучшей визуализации осуществляли докрасивание ядер гематоксилином по стандартной методике. Гистологические препараты сканировали с помощью сканера микропрепаратов Aperio CS2 (Leica Biosystems,

Германия) с последующим анализом цифровых изображений с использованием программного обеспечения Aperio ImageScope (Leica Biosystems, Германия).

В соответствии с диагностическими критериями [26, 27], дополненными иммуногистохимической реакцией на CD45⁺ клетки [28], миокардит диагностировали при наличии воспалительной инфильтрации (более 14 CD45⁺ клеток на 1 мм²), не связанной с типичным ишемическим поражением миокарда, при условии некробиотических изменений со стороны кардиомиоцитов. Количественные данные в тексте, относящиеся к количеству клеток CD45⁺ на 1 мм² (1 000 000 мкм²), представлены в виде медианы и диапазона значений (мин; макс). Клетки CD45⁺ подсчитывали в одном наиболее репрезентативном поле (1 мм²) на каждый случай с последующим расчетом обобщенного медианного значения. Поскольку CD45 использовался для подтверждения миокардита, количественные данные представлены только для случаев с подозрением на миокардит при проведении описательного гистологического анализа.

Результаты

Из 48 пациентов, скончавшихся от осложнений COVID-19, было 18 мужчин (37,5%) и 30 женщин (62,5%). Средний возраст составил 76 лет (диапазон от 39 до 95 лет). Все пациенты находились на лечении в отделении интенсивной терапии и получали респираторную поддержку. Во всех случаях диагноз ассоциированной с SARS-CoV-2 инфекции был подтвержден повторными положительными ПЦР-тестами на вирусную РНК, а также клинико-рентгенологическими данными с характерным диффузным двусторонним поражением легких. Некоторые демографические, а также анамнестические, клинические и лабораторные данные были недоступны. Данные, касающиеся возраста, пола

и клинического диагноза пациентов, включенных в исследование, обобщены в таблице.

Во всех случаях в качестве основного диагноза выступала новая коронавирусная инфекция (COVID-19) с двусторонней пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2 и острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС). Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями были ишемическая болезнь сердца (38 случаев; 79,2%), сердечная недостаточность (33 случая; 68,7%), артериальная гипертензия (22 случая; 45,8%), нарушение толерантности к глюкозе/сахарный диабет 2-го типа (восемь случаев; 16,7%), нарушения сердечного ритма (пять случаев; 10,4%) и ожирение (четыре случая; 8,3%). Другие сопутствующие патологические состояния включали мочекаменную болезнь (три случая; 6,25%), хронический пиелонефрит, хронический панкреатит, ревматоидный артрит, язвенную болезнь, ВИЧ-инфекцию, рак предстательной железы и легкого (по одному случаю; 2,1%).

Посмертные образцы миокарда характеризовались отсутствием аутолитических изменений при сохранении в целом гистоархитектоники миокарда. В большинстве проанализированных случаев выявлены диффузный кардиосклероз (35 случаев, 72,9%) и компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов (38 случаев, 79,1%), которая была связана с имеющейся сопутствующей сердечно-сосудистой патологией. Аналогичным образом, учитывая возрастную группу выборки, в большинстве случаев выявлялись старческие или возрастные изменения кардиомиоцитов с внутриклеточным накоплением гранул липофусцина. Во всех случаях определялись разной степени дегенеративные изменения со стороны сократительных кардиомиоцитов. Миофибриллы характеризовались диссоциацией и приобретали волнообразный ход.

Таблица | Table

Основные характеристики пациентов, включенных в исследование |
Basic characteristics of the studied patients

№ случая Case No.	Пол Sex	Возраст, лет Age, years	Сопутствующие заболевания Concomitant diseases
1	Ж F	76	Аритмия (мерцательная аритмия), АГ, СН Arrhythmia (atrial fibrillation), АН, HF
2	Ж F	72	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, НТГ Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, АН, HF, IGT
3	Ж F	69	ИБС, АГ, СН, НТГ CAD, АН, HF, IGT
4	М M	95	ИБС, АГ, СН CAD, АН, HF
5	Ж F	58	ИБС, хронический пиелонефрит, ВИЧ-инфекция CAD, chronic pyelonephritis, HIV
6	Ж F	73	ИБС, АГ, СН, ожирение CAD, АН, HF, obesity
7	Ж F	79	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, АН, HF, type 2 DM
8	М M	83	ИБС, АГ, СН CAD, АН, HF
9	М M	75	Аритмия (мерцательная аритмия, полная блокада левой ножки пучка Гиса), СН Arrhythmia (atrial fibrillation, complete left bundle branch block), HF
10	М M	72	ИБС, АГ CAD, АН

Окончание таблицы | End of table

№ случая Case No.	Пол Sex	Возраст, лет Age, years	Сопутствующие заболевания Concomitant diseases
11	М М	83	Рак предстательной железы Prostate cancer
12	Ж F	85	Аритмия (мерцательная аритмия), ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа Arrhythmia (atrial fibrillation), CAD, AH, HF, type 2 DM
13	Ж F	86	ИБС, АГ, СН, СД 2-го типа CAD, AH, HF, type 2 DM
14	М М	64	ИБС, СН CAD, HF
15	Ж F	60	ИБС, СН CAD, HF
16	М М	75	ИБС CAD
17	Ж F	73	АГ АН
18	М М	72	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
19	Ж F	70	ИБС, СН CAD, HF
20	Ж F	90	ИБС CAD
21	Ж F	87	ИБС, СН CAD, HF
22	М М	39	СН, хронический панкреатит, новообразование легких HF, chronic pancreatitis, lung neoplasm
23	Ж F	90	ИБС, СН CAD, HF
24	М М	84	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
25	М М	77	ИБС CAD
26	Ж F	89	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
27	М М	60	АГ, СН АН, HF
28	М М	60	ИБС CAD
29	Ж F	87	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
30	М М	43	ИБС CAD
31	Ж F	80	ИБС, СН CAD, HF
32	Ж F	80	ИБС, СН CAD, HF
33	Ж F	82	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
34	Ж F	83	АГ, СД 2-го типа, ревматоидный артрит АН, type 2 DM, rheumatoid arthritis
35	Ж F	72	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
36	Ж F	88	ИБС, СН CAD, HF
37	Ж F	62	ИБС, гипертрофия миокарда левого желудочка, ожирение CAD, left ventricular myocardial hypertrophy, obesity
38	Ж F	76	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
39	Ж F	74	ИБС, СН, ожирение CAD, HF, obesity
40	Ж F	82	ИБС, СН, СД 2-го типа CAD, HF, type 2 DM
41	М М	85	ИБС CAD
42	М М	60	ИБС, СН CAD, HF
43	Ж F	85	ИБС, СН CAD, HF
44	Ж F	83	ИБС, АГ, СН CAD, AH, HF
45	М М	83	ИБС, СН, ожирение, язвенная болезнь CAD, HF, obesity, peptic ulcer
46	М М	76	ИБС, СД 2-го типа CAD, type 2 DM
47	Ж F	64	ИБС, СН CAD, HF
48	Ж F	70	ИБС, АГ CAD, AH

ИБС – ишемическая болезнь сердца; АГ – артериальная гипертензия/гипертоническая болезнь; СН – сердечная недостаточность; СД – сахарный диабет; НТГ – нарушение толерантности к глюкозе; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
 CAD – coronary artery disease; AH – arterial hypertension/essential hypertension; HF – heart failure; DM – diabetes mellitus; IGT – impaired glucose tolerance; HIV – human immunodeficiency virus

Кардиомиоциты имели признаки вакуолизации цитоплазмы с распадом отдельных участков миофибрилл.

В 12 из 48 случаев (25%) выявлено острое ишемическое поражение миокарда, в том числе в двух случаях – обширный ишемический инфаркт миокарда

да с периферической геморрагической зоной. Случаи очаговой ишемии представлены множеством мелких очагов с выраженной деструкцией кардиомиоцитов с гиперхромными ядрами, распадом и лизисом миофибрилл (рис. 1). В семи случаях (14,6%) выявлены

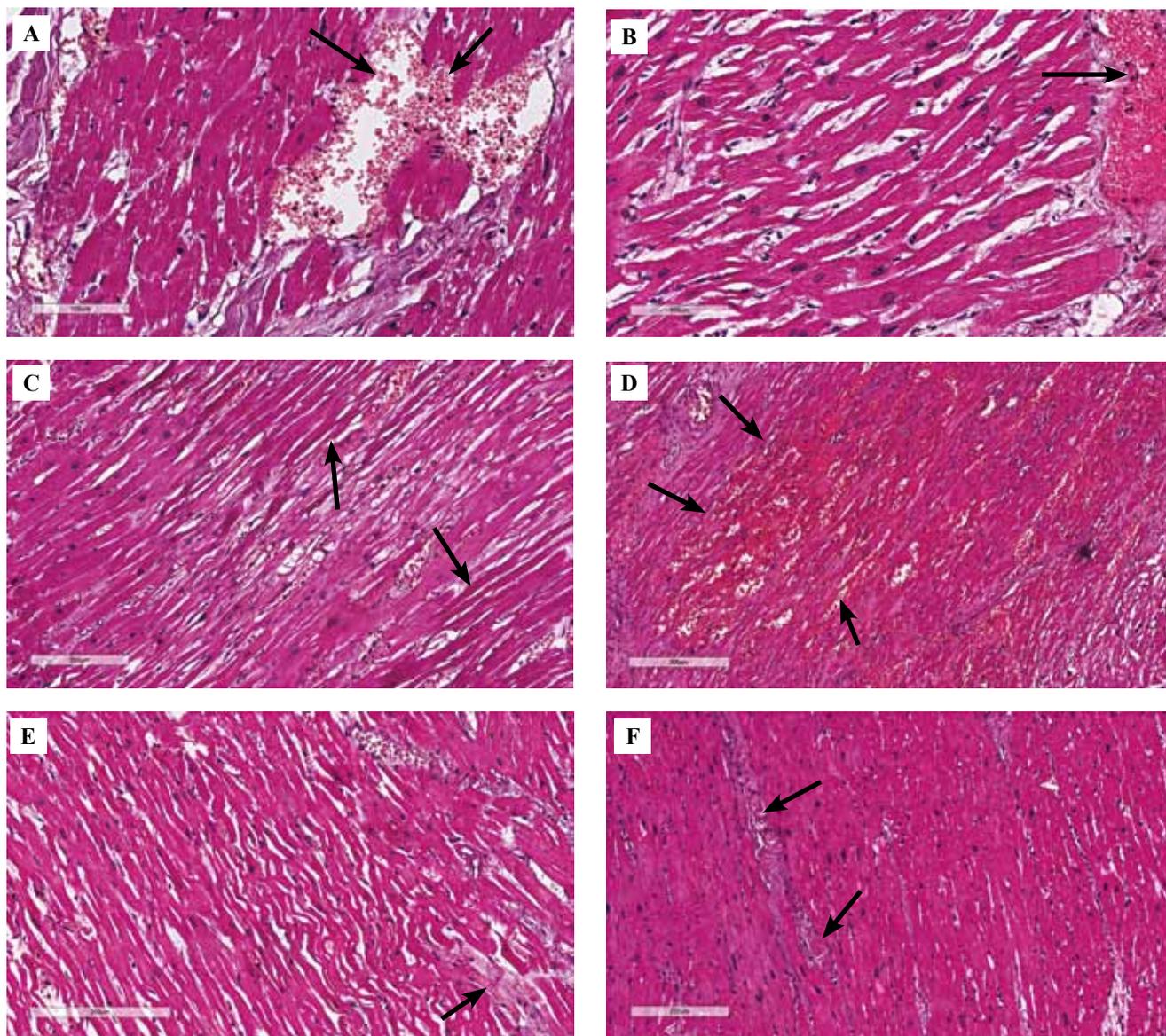


Рис. 1. Микроскопические характеристики миокарда у пациентов с COVID-19.

А – кардиосклероз и дегенеративные изменения кардиомиоцитов на фоне мелкоочагового кровоизлияния (стрелки). Случай № 42. В – гипертрофированные кардиомиоциты и интерстициальный отек; полнокровный кровеносный сосуд (стрелка). Случай № 5. С – очаговая зона ишемического повреждения кардиомиоцитов с литическими изменениями (стрелки). Случай № 24. D – инфаркт миокарда с зоной кровоизлияния (стрелки). Случай № 32. E – волнообразный ход пучков кардиомиоцитов с дегенеративными изменениями на фоне тромбоза микроциркуляторного русла (стрелка). Случай № 28. F – тромбоз сосудов микроциркуляторного русла (стрелки) с выраженными очаговыми ишемическими некробиотическими изменениями кардиомиоцитов. Случай № 17. A–F – окраска гематоксилином и эозином, A, B, E, F – масштабная линейка 100 мкм, C – 200 мкм, D – 300 мкм

Fig. 1. Microscopic features of the myocardium in patients with COVID-19.

A – cardioclerosis and degenerative changes in cardiomyocytes on the background of mild focal hemorrhage (arrows). Case No. 42. B – hypertrophic cardiomyocytes and interstitial edema; plethoric blood vessel (arrow). Case No. 5. C – focal zone of ischemic necrosis of cardiomyocytes with lytic changes (arrows). Case No. 24. D – myocardial infarction with hemorrhage (arrows). Case No. 32. E – wavy appearance of cardiomyocyte bundles with degenerative changes on the background of microvascular thrombosis (arrow). Case No. 28. F – well defined microvascular thrombosis (arrows) with prominent focal ischemic necrobiotic changes in cardiomyocytes. Case No. 17. A–F – H&E stain, A, B, E, F – scale bar 100 µm, C – 200 µm, D – 300 µm

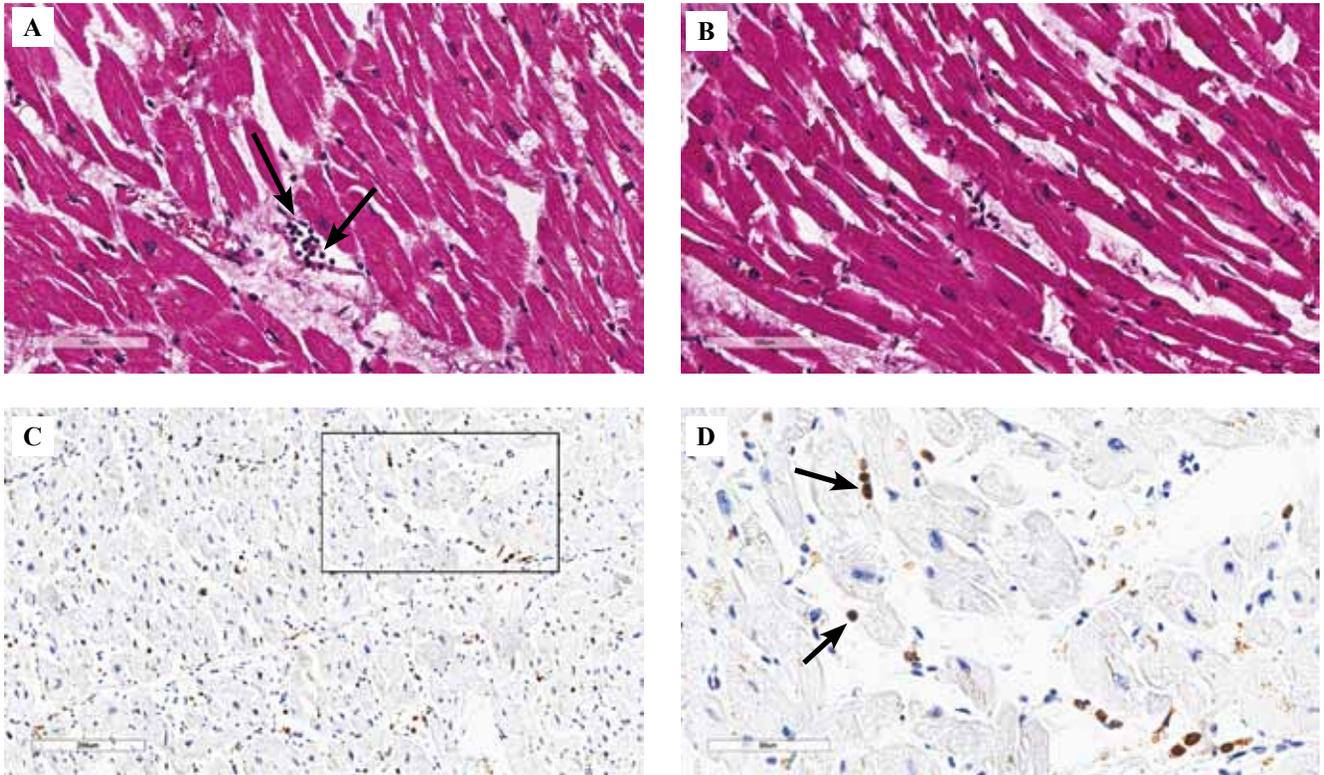


Рис. 2. Воспалительный инфильтрат в миокарде пациентов с COVID-19.

А – очаговая периваскулярная воспалительная лимфоцитарная инфильтрация (стрелки). Случай № 45.

В – интерстициальный отек и незначительная диффузная воспалительная инфильтрация за счет лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток. Случай № 49. С – незначительная диффузная инфильтрация CD45⁺ клеток. Случай № 48. D – большее увеличение того же гистологического препарата с типичной морфологией CD45⁺ клеток (стрелки) в непосредственном контакте с сарколеммой сократительных кардиомиоцитов. Случай № 48. А, В – окраска гематоксилином и эозином, А – масштабная линейка 90 мкм, В – масштабная линейка 100 мкм. С, D – ИГХ окрашивание с антителами к CD45. С – масштабная линейка 200 мкм, D – 80 мкм

Fig. 2. Inflammatory myocardial infiltrates in COVID-19 patients.

A – focal extravascular inflammatory infiltration due to accumulated lymphocytes (arrows). Case No. 45. B – interstitial edema and diffuse mild inflammatory infiltration by lymphocytes, histiocytes, and plasma cells. Case No. 49. C – diffuse mild infiltration with CD45⁺ cells. Case No. 48. D – higher magnification of the same histological slide with typical lymphocytic morphology of CD45⁺ cells (arrows) in direct contact with the sarcolemma of contractile cardiomyocytes. Case No. 48.

A, B – H&E stain, A – scale bar 90 μ m, B – 100 μ m. C, D – IHC assay with antibodies to CD45. C – 200 μ m, D – 80 μ m

признаки тромбоза сосудов микроциркуляторного русла, сопровождающегося некрозом кардиомиоцитов, с нарушением целостности сосудистой стенки, повышенной проницаемостью, интерстициальным отеком и кровоизлияниями.

Признаки воспалительной реакции (за исключением случаев перифокального демаркационного воспаления в условиях ишемического некроза) выявлены в девяти случаях (18,75%). Вместе с тем ни в одном из этих случаев имеющая место лимфогистиоцитарная инфильтрация не была выраженной (рис. 2 А, В). Отмечали небольшие скопления CD45⁺ клеток в периваскулярных пространствах или их диффузное расположение в межмышечных пространствах в непосредственном контакте с сарколеммой кардиомиоцитов (рис. 2 С, D). В большинстве случаев CD45⁺ клетки, основываясь на типичных морфологических признаках, соответствовали макрофагам и клеткам лимфоидного ряда.

Совокупная медиана количества CD45⁺ клеток (по данным анализа девяти из 48 случаев с подозрением на миокардит) составила 28,00 (17–36) на 1 мм². Вместе с тем ни один из этих случаев не сопровождался выраженными некробиотическими изменениями со стороны кардиомиоцитов и не расценивался как острый лимфоцитарный миокардит. Принимая во внимание изложенное выше, такие случаи могут быть отнесены к явлениям так называемого пограничного миокардита, хотя отдельное выделение данного патологического состояния в настоящее время подвергается критике.

Обсуждение

С начала пандемии исследования предоставили значительный объем данных о поражении сердечно-сосудистой системы, в том числе в отношении (1) венозного и артериального тромбоза, (2) явлений тромбоэмболии, (3) острого ишемического повреждения

миокарда, включая инфаркт миокарда, и (4) активного и пограничного миокардита [14, 25, 29, 30]. Хотя связь между тяжелым течением COVID-19 и повреждением миокарда считается доказанной, патогенез повреждения миокарда на фоне SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции до конца не изучен. Остается открытым вопрос о генезе повреждения миокарда. Являются ли клиничко-морфологические проявления поражения сердца следствием острого респираторного дистресс-синдрома и системной воспалительной реакции или обусловлены преимущественно кардиотропным действием вируса? После обнаружения способности SARS-CoV-2 связываться с рецепторами ACE2 на клеточных мембранах возник закономерный вопрос: может ли вирус проникать в кардиомиоциты и вызывать цитопатический эффект? Несмотря на значительное количество исследований, однозначный ответ пока не получен. С использованием методов электронной микроскопии, иммуногистохимии и молекулярной генетики установлено наличие вирусных частиц в кардиомиоцитах, эндотелии, перичитах и клетках моноцитарного происхождения [20, 31, 32]. Тем не менее одни исследователи склонны считать, что поражение миокарда опосредовано повреждением эндотелия сосудов микроциркуляторного русла [33, 34], другие придерживаются теории вирусного повреждения кардиомиоцитов [20, 32]. Наши данные свидетельствуют о значительной доле тромбозов сосудов в микроциркуляторном русле (в 25% случаев), сопровождающихся различной степенью ишемии миокарда, что соответствует эндотелиально-опосредованному поражению сердца. Также ни в одном из проанализированных случаев не были выявлены морфологические признаки прямого цитопатического эффекта на кардиомиоциты.

Вирус SARS-CoV-2, воздействуя на клетки, экспрессирующие ACE2, по-видимому, вызывает эндотелиальную дисфункцию, играющую ключевую роль в большинстве описанных механизмов развития осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Эндотелиальная дисфункция запускает каскад реакций, вызывающих вазоконстрикцию и гиперкоагуляцию, которые в сочетании с системной воспалительной реакцией приводят к тромботическим осложнениям.

Поражения сердца при COVID-19 можно разделить по клиничко-морфологическим проявлениям на ишемические и воспалительные изменения. Первый тип поражения может возникать в результате повреждения микрососудов и тромбоза вследствие коагулопатии в ответ на вирусную инфекцию, системного воспаления [35], системной гипоксии и несоответствия потребности миокарда в кислороде [23]. Что касается воспалительных изменений, они могут быть связаны с проявлением системной воспалительной реакции и цитокинового шторма либо быть опосредованы прямым вирусным поражением миокарда. При этом отличить миокардит, связанный с системной воспалительной реакцией, и миокардит, вызванный цитопатическим действием

вируса SARS-CoV-2, практически не представляется возможным. Терапия кортикостероидами, используемая при тяжелой SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции, также может маскировать патоморфологические признаки лимфоцитарного миокардита (по крайней мере, активного миокардита) [36]. Примечательно, что результаты, полученные в исследовании, подтверждают диффузное распределение клеток воспалительного инфильтрата при миокардите, ассоциированном с COVID-19. Как было показано в исследовании S.E. Fox et al., увеличение количества диффузно расположенных CD68⁺ клеток с примесью Т-лимфоцитов и нейтрофилов в миокарде может быть характерным признаком SARS-CoV-2-ассоциированного поражения [37].

По данным разных исследователей, патогенетические механизмы, лежащие в основе острого повреждения миокарда, могут быть разнонаправлены. Миокардит, кардиомиопатия, дисфункция микроциркуляторного русла, системное воспаление и цитокиновый шторм, гипоксемия на фоне острого респираторного дистресс-синдрома могут приводить к различным патоморфологическим проявлениям в миокарде при новой коронавирусной инфекции [38]. Показано, что развитие острого ишемического поражения миокарда у пациентов с COVID-19 существенно ухудшает прогноз и является независимым предиктором летального исхода [39]. Пациенты с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями подвергаются наибольшему риску [40].

Таким образом, повреждение миокарда при SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции может включать множество взаимосвязанных механизмов, которые в настоящее время до конца не изучены. Это диктует необходимость дальнейших исследований для понимания патогенеза и разработки более эффективных терапевтических стратегий.

Заключение

Исследование аутопсийных образцов миокарда 48 пациентов, скончавшихся на фоне тяжелого течения COVID-19, позволило выявить ишемическое поражение миокарда (в 25% случаев), тромбоз сосудов микроциркуляторного русла (14,6%) и воспалительные изменения по типу пограничного миокардита (18,75%). Учитывая недостаточность имеющейся информации о преобладающих закономерностях поражения сердца и его последствиях, полученные результаты представляют интерес с точки зрения дальнейшего изучения поражения сердечно-сосудистой системы при COVID-19 и ведения пациентов с тяжелым течением SARS-CoV-2-ассоциированной инфекции.

Ограничения исследования

Несмотря на достоверность полученных результатов, авторы признают наличие ряда объективных ограничений данного исследования. Эта работа была проведена на относительно небольшом количестве аутопсийных образцов (48 образцов). В исследовании не были в полной мере выполнены рекомендации Европейского общества кардиологов (ESC) по иммуногистохимическому под-

тверждению наличия CD3⁺ и CD68⁺ клеток (критерии Далласа); вместо этого использовали критерий количества клеток CD45⁺ наряду с подтверждением типичной морфологии макрофагов/лимфоидных клеток. Кроме того, критерии Далласа были разработаны для диагностики миокардита на основе эндомикардиальной биопсии, а не аутопсии.

Study Limitations

The authors acknowledge a number of objective limitations of this research. This work was carried out on a relatively small number of autopsy specimens (48 samples). The study did not fully comply with the recommendations of the European Society of Cardiology (ESC) requiring immunohistochemical CD3⁺ and CD68⁺ cell confirmation (Dallas criteria); instead, CD45⁺ cell count criteria was used with confirmation of typical macrophage/lymphoid cell morphology. In addition, the Dallas criteria were developed to diagnose myocarditis in endomyocardial biopsies rather than autopsy samples.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – М.А. Кривенцов.
Сбор и обработка материала – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов, А.А. Давыдова, А.А. Бекетов.
Написание текста – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, М.А. Кривенцов.
Редактирование – А.А. Галышевская, Ю.А. Ермола, Т.П. Макалиш, М.А. Кривенцов, А.А. Давыдова, А.А. Бекетов.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – М.А. Kriventsov.
Collected the data and performed the analysis – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov, A.A. Davydova, A.A. Beketov.
Wrote the paper – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, M.A. Kriventsov.
Edited the manuscript – А.А. Galyshevskaya, Yu.A. Yermola, T.P. Makalish, M.A. Kriventsov, A.A. Davydova, A.A. Beketov.

Литература/References

1. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
2. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herler T, Erichsen S et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–280.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
3. Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun*. 2020;11(1):1620. DOI: 10.1038/s41467-020-15562-9.
4. Pesaresi M, Pirani F, Tagliabracci A, Valsecchi M, Procopio AD, Busardò FP et al. SARS-CoV-2 identification in lungs, heart and kidney specimens by transmission and scanning electron microscopy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(9):5186–8. DOI: 10.26355/eurrev_202005_21217.
5. Egas D, Guadalupe JJ, Prado-Vivar B, Becerra-Wong M, Márquez S, Castillo S et al. SARS-CoV-2 detection and sequencing in heart tissue associated with myocarditis and persistent arrhythmia: A case report. *IDCases*. 2021;25:e01187. DOI: 10.1016/j.idcr.2021.e01187.
6. Italia L, Tomasoni D, Bisegna S, Pancaldi E, Stretti L, Adamo M et al. COVID-19 and heart failure: From epidemiology during the pandemic to myocardial injury, myocarditis, and heart failure sequelae. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:713560. DOI: 10.3389/fcvm.2021.713560.
7. Shaha KB, Manandhar DN, Cho JR, Adhikari A, KC MB. COVID-19 and the heart: What we have learned so far. *Postgrad Med J*. 2021;97(1152):655–66. DOI: 10.1136/postgradmedj-2020-138284.
8. Doyen D, Moceri P, Ducreux D, Dellamonica J. Myocarditis in a patient with COVID-19: a cause of raised troponin and ECG changes. *Lancet*. 2020;395(10235):1516. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30912-0.
9. Oleszak F, Maryniak A, Botti E, Abraham C, Salifu MO, Youssef M et al. Myocarditis associated with COVID-19. *Am J Med Case Rep*. 2020;8(12):498–502. DOI: 10.12691/ajmcr-8-12-19.
10. Beaudry JT, Dietrick B, Lammert DB, Constat A, McCaw J, Hammond J et al. Fatal SARS-CoV-2 inflammatory syndrome and myocarditis in an adolescent: A case report. *Pediatr Infect Dis J*. 2021;40(2):e72–e76. DOI: 10.1097/INF.0000000000002978.
11. Luetkens JA, Isaak A, Öztürk C, Mesropyran N, Monin M, Schlabe S et al. Cardiac MRI in suspected acute COVID-19 myocarditis. *Radiol Cardiothorac Imaging*. 2021;3(2):e200628. DOI: 10.1148/ryct.2021200628.
12. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2013;34(33):2636–48, 2648a–2648d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehd210.
13. Basso C, Calabrese F, Angelini A, Carturan E, Thiene G. Classification and histological, immunohistochemical, and molecular diagnosis of inflammatory myocardial disease. *Heart Fail Rev*. 2013;18(6):673–81. DOI: 10.1007/s10741-012-9355-6.
14. Lindner D, Fitzek A, Bräuningner H, Aleshcheva G, Edler C, Meissner K et al. Association of cardiac infection with SARS-CoV-2 in confirmed COVID-19 autopsy cases. *JAMA Cardiol*. 2020;5(11):1281–5. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.3551.
15. Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*. 2020;77(2):198–209. DOI: 10.1111/his.14134.
16. Halushka MK, VanderHeide RS. Myocarditis is rare in COVID-19 autopsies: cardiovascular findings across 277 postmortem examinations. *Cardiovasc Pathol*. 2021;50:107300. DOI: 10.1016/j.carpath.2020.107300.
17. Kawakami R, Sakamoto A, Kawai K, Gianatti A, Pellegrini D, Nasr A et al. Pathological evidence for SARS-CoV-2 as a cause of myocarditis: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(3):314–25. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.031.
18. Tersalvi G, Vicenzi M, Calabretta D, Biasco L, Pedrazzini G, Winterton D. Elevated troponin in patients with coronavirus disease 2019: Possible mechanisms. *J Card Fail*. 2020;26(6):470–5. DOI: 10.1016/j.cardfail.2020.04.009.

19. Chen L, Li X, Chen M, Feng Y, Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res.* 2020;116(6):1097–100. DOI: 10.1093/cvr/cvaa078.
20. Bailey AL, Dmytrenko O, Greenberg L, Bredemeyer AL, Ma P, Liu J et al. SARS-CoV-2 infects human engineered heart tissues and models COVID-19 myocarditis. *JACC Basic Transl Sci.* 2021;6(4):331–45. DOI: 10.1016/j.jacbs.2021.01.002.
21. Trpkov C, MacMullan P, Feuchter P, Kachra R, Heydari B, Merchant N et al. Rapid response to cytokine storm inhibition using Anakinra in a patient with COVID-19 Myocarditis. *CJC Open.* 2021;3(2):210–3. DOI: 10.1016/j.cjco.2020.10.003.
22. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine storm. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2255–73. DOI: 10.1056/NEJMra2026131.
23. Talanas G, Dossi F, Parodi G. Type 2 myocardial infarction in patients with coronavirus disease 2019. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2021;22(7):603–5. DOI: 10.2459/JCM.0000000000001136.
24. Liu D, Zeng X, Ding Z, Lv F, Mehta JL, Wang X. Adverse cardiovascular effects of anti-COVID-19 drugs. *Front Pharmacol.* 2021;12:699949. DOI: 10.3389/fphar.2021.699949.
25. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, Grasselli G, Novembrino C, Chantarangkul V et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in Intensive Care Unit. A report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2020;18(7):1738–42. DOI: 10.1111/jth.14850.
26. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ Jr et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol.* 1987;1(1):3–14. PMID: 3455232.
27. Baughman KL. Diagnosis of myocarditis: Death of Dallas criteria. *Circulation.* 2006;113(4):593–5. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.589663.
28. Woudstra L, Biesbroek PS, Emmens RW, Heymans S, Juffermans LJ, van der Wal AC et al. CD45 is a more sensitive marker than CD3 to diagnose lymphocytic myocarditis in the endomyocardium. *Hum Pathol.* 2017;62:83–90. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.11.006.
29. Katsoularis I, Fonseca-Rodríguez O, Farrington P, Lindmark K, Fors Connolly AM. Risk of acute myocardial infarction and ischaemic stroke following COVID-19 in Sweden: A self-controlled case series and matched cohort study. *Lancet.* 2021;398(10300):599–607. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00896-5.
30. Fox SE, Heide RSV. COVID-19: The heart of the matter-pathological changes and a proposed mechanism. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2021;26(3):217–24. DOI: 10.1177/1074248421995356.
31. Bulfamante GP, Perrucci GL, Falleni M, Sommariva E, Tosi D, Martinelli C et al. Evidence of SARS-CoV-2 transcriptional activity in cardiomyocytes of COVID-19 patients without clinical signs of cardiac involvement. *Biomedicines.* 2020;8(12):626. DOI: 10.3390/biomedicines8120626.
32. Nakamura Y, Katano H, Nakajima N, Sato Y, Suzuki T, Sekizuka T et al. SARS-CoV-2 is localized in cardiomyocytes: A postmortem biopsy case. *Int J Infect Dis.* 2021;111:43–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.08.015.
33. Maccio U, Zinkernagel AS, Shambat SM, Zeng X, Cathomas G, Ruschitzka F et al. SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart. *EBioMedicine.* 2021;63:103182. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103182.
34. Avolio E, Carrabba M, Milligan R, Kavanagh Williamson M, Beltrami A, Gupta K et al. The SARS-CoV-2 Spike protein disrupts human cardiac pericytes function through CD147-receptor-mediated signalling: A potential non-infective mechanism of COVID-19 microvascular disease. *Clin Sci (Lond).* 2021;135(24):2667–89. DOI: 10.1042/CS20210735.
35. Chen L, Hu W, Guo X, Zhao P, Tang J, Gu Y et al. Association of coagulation dysfunction with cardiac injury among hospitalized patients with COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11(1):4432. DOI: 10.1038/s41598-021-83822-9.
36. Robinson PC, Morand E. Divergent effects of acute versus chronic glucocorticoids in COVID-19. *Lancet Rheumatol.* 2021;3(3):e168–e170. DOI: 10.1016/S2665-9913(21)00005-9.
37. Fox SE, Falgout L, Vander Heide RS. COVID-19 myocarditis: Quantitative analysis of the inflammatory infiltrate and a proposed mechanism. *Cardiovasc Pathol.* 2021;54:107361. DOI: 10.1016/j.carpath.2021.107361.
38. Fried JA, Ramasubbu K, Bhatt R, Topkara VK, Clerkin KJ, Horn E et al. The variety of cardiovascular presentations of COVID-19. *Circulation.* 2020;141(23):1930–6. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047164.
39. Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F et al. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802–10. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.0950.
40. Aladağ N, Atabey RD. The role of concomitant cardiovascular diseases and cardiac biomarkers for predicting mortality in critical COVID-19 patients. *Acta Cardiol.* 2021;76(2):132–9. DOI: 10.1080/00015385.2020.1810914.

Информация об авторах

Юлианна Аркадьевна Ермола – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Анна Александровна Гальшевская – ординатор кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Александра Александровна Давыдова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Алексей Алексеевич Бекетов – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Татьяна Павловна Макалиш – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Максим Андреевич Кривенцов – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии с секционным курсом Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Author information

Yulianna A. Yermola – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
<https://orcid.org/0000-0003-4474-3714>

Anna A. Galyshevskaya – Resident, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
<https://orcid.org/0000-0003-4406-3540>

Alexandra A. Davydova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
<https://orcid.org/0000-0003-0843-1465>

Alexey A. Beketov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
<https://orcid.org/0000-0002-0369-5165>

Tatyana P. Makalish – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
<https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Maxim A. Kriventsov – Dr. Sci. (Med.), Head of the Pathological Anatomy Department with dissection course, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University
<https://orcid.org/0000-0001-5193-4311>

Иммуногистохимические маркеры для исследования органов пищеварительной системы

Е.И. Чумасов¹, Е.С. Петрова¹, В.Б. Самедов², Е.А. Колос¹, Д.Э. Коржевский¹

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Введение. При проведении морфологического исследования органов пищеварительной системы важным этапом является выбор адекватных и информативных подходов, один из которых – иммуногистохимическое исследование. Цель настоящей работы – выделить наиболее эффективные и надежные иммуногистохимические маркеры в дополнение к общеизвестным маркерам, используемым в диагностике.

Материалы и методы. Объектами исследования служили различные отделы кишечника и поджелудочной железы крыс Вистар (n=20) и фрагменты кишки человека, полученные в результате плановой операции – резекции кишечника (n=4). В статье представлены результаты иммуногистохимических реакций на нейрональные маркеры, глиальные маркеры и маркеры клеток, участвующих в развитии воспалительных процессов.

Результаты. Изучены основные иммуногистохимические маркеры, позволяющие исследовать иннервацию органов пищеварительной системы. Это нейрональные (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин, серотонин) и глиальные (глиальный фибриллярный кислый белок и белок S100) маркеры, которые позволяют идентифицировать все нервные структуры в органах пищеварительной системы крыс: нейроны и их отростки, нервные стволы и пучки, нервные сплетения, терминальные сети, а также маркеры макрофагов (CD68, Iba1) и тучных клеток (триптаза), которые применимы для изучения воспалительного процесса в органах желудочно-кишечного тракта при патологии. Отмечен ряд особенностей используемых для выявления определенных антигенов первичных антител и фиксирующих жидкостей.

Заключение. Описанная методология перспективна для оценки состояния тканей кишки и поджелудочной железы и может быть использована при диагностике заболеваний, связанных с воспалением и нейродегенерацией.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, толстая кишка, поджелудочная железа, крыса, человек, иннервация, воспаление, иммуногистохимия

Для корреспонденции: Елена Сергеевна Петрова. E-mail: iemmorphol@yandex.ru

Для цитирования: Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Самедов В.Б., Колос Е.А., Коржевский Д.Э. Иммуногистохимические маркеры для исследования органов пищеварительной системы. Клини. эксп. морфология. 2022;11(4):70–84. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.70-84.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Института экспериментальной медицины (№ FGWG-2022-0002).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 11.04.2022. Получена после рецензирования 22.04.2022. Принята в печать 25.04.2022.

Immunohistochemical markers to study the digestive organs

E.I. Chumasov¹, E.S. Petrova¹, V.B. Samedov², E.A. Kolos¹, D.E. Korzhevskii¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

² S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia

Abstract. Introduction. To select an appropriate and informative histological method is a very important step in morphological analysis of the digestive organs, one of them being immunohistochemistry. The aim of this paper was to highlight the most effective immunohistochemical markers in addition to the well-known markers used in pathological diagnosis.

Materials and methods. We studied sections of the intestine and pancreas of Wistar rats (n=20) and fragments of the human colon obtained during resection surgeries (n=4). We described and analyzed the results of immunohistochemical studies with neuronal and glial marker antibodies and inflammatory cells antibodies.

Results. Neural (PGP 9.5 protein, tyrosine hydroxylase, synaptophysin, and serotonin) and glial markers (glial fibrillar acidic protein and S100 protein) enable for identifying all of the nervous structures in the murine digestive system such as neurons, nerve trunks and bundles, nerve plexuses, and terminals. Macrophage markers (CD68, Iba1) and mast cell marker (mast cell tryptase) can be applied to study the inflammatory process in the intestinal tissue. We described the key features of primary antibodies and fixative agents used in histopathology.

Conclusion. We have shown that the described method is a promising assessment technique for histological studies of the intestine and pancreas pathologies. It can be used in diagnosing conditions associated with inflammation and neurodegeneration.

Keywords: duodenum, colon, pancreas, rat, human, innervation, inflammation, immunohistochemistry

Corresponding author: Elena S. Petrova. E-mail: iemmorpol@yandex.ru

For citation: Chumasov E.I., Petrova E.S., Samedov V.B., Kolos E.A., Korzhevskii D.E. Immunohistochemical markers to study the digestive organs. Clin. exp. morphology. 2022;11(4):70–84 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.70-84.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Institute of Experimental Medicine (No. FGWG-2022-0002).

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

Received 11.04.2022. **Received in revised form** 22.04.2022. **Accepted** 25.04.2022.

Введение

Актуальность изучения клинико-морфологических особенностей поражений органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) обусловлена большой распространенностью этих патологий, а также недостатком знаний о патогенезе ряда заболеваний [1, 2]. Исследования структурных элементов стенок кишечника и поджелудочной железы проводятся в течение многих десятилетий, морфологическая диагностика осуществляется, как правило, гистологическими и гистохимическими методами. В настоящее время для изучения морфофункциональных особенностей клеток и тканей органов пищеварительной системы, а также их изменений при патологии используются методы иммуногистохимического выявления собственных им белков [3–5]. Развитие большинства патологий в этих органах (исключая онкологию) связаны с двумя основными проблемами – нарушением иннервации и воспалительными процессами. Ранее показано, что иммуногистохимические (ИГХ) реакции на ряд нейрональных белков позволяют изучать иннервацию внутренних органов в норме и при патологии [6]. Известно, что нормальное функционирование кишечника регулируется нервной системой [7]. Вторым важным патогенетическим фактором заболеваний кишечника является воспалительный процесс. Вопросы патогенеза некоторых воспалительных заболеваний кишечника, в частности болезни Крона, синдрома раздраженного кишечника, язвенного колита, хронического медленнотранзитного запора (ХМТЗ), до сих пор остаются малоизученными. Для успешного лечения, последующей восстановительной терапии и более точной оценки структурных изменений, наблюдаемых в стенке кишки, необходимы морфологические сведения, полученные с использованием специальных иммуногистохимических методов, которые позволяют оценить состояние нервных

структур и клеток, участвующих в воспалительных процессах, а также их взаимоотношения.

Цель настоящего исследования – определить наиболее эффективные и надежные иммуногистохимические маркеры в дополнение к общеизвестным маркерам, используемым в диагностике органов ЖКТ.

Материалы и методы

В работе использованы крысы Вистар массой 200–250 граммов (n=20) и резекционный материал, полученный на кафедре факультетской хирургии им. С.П. Федорова Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (четыре случая, женщины в возрасте 37–40 лет). При исследовании, проводимом на крысах, соблюдали международные правила Европейской декларации о гуманном обращении с животными. При работе с материалом, полученном в результате оперативного вмешательства по поводу хронического медленнотранзитного запора, соблюдали правила Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2000 года. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Института экспериментальной медицины (протокол № 3/19 от 25 апреля 2019 года). Крыс выводили из эксперимента передозировкой паров этилового эфира, выделяли фрагменты поджелудочной железы (ПЖ), двенадцатиперстной и ободочной кишки размером приблизительно 1,5 см и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида и в 10% растворе формалина. Фрагменты ободочной и сигмовидной кишки человека также фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида и в 10% растворе формалина. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле гистологический материал заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Rotary 3003 PFM (PFM, Германия). Иммуногистохимические реакции проводили на парафиновых срезах ПЖ, тонкой и толстой кишки крысы

и толстой кишки человека. Для визуализации определенных структурных элементов стенки кишечника применяли антитела, характеристика которых представлена в таблице.

В качестве вторичных реагентов использовали реактивы из наборов Super Sensitive Polymer-HRP Detection System (Bio Genex, США) и EnVision+ System– HRP Labeled Polymer Anti-Mouse (K4001) (Dako, Дания). Для визуализации продукта иммуногистохимической реакции применяли 3'3'-диаминобензидин (набор реагентов DAB+, Dako, Дания). Для

иммуногистохимических реакций проводили отрицательный контроль с нанесением на срезы вместо первичных антител их разбавителя (Dako, Дания). После постановки ИГХ реакций часть срезов подкрашивали 0,2% водным раствором астрового синего (Merck, Германия), 0,1% водным раствором толуидинового синего (Sigma, США) или гематоксилином и эозинном. Анализ гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM 750 (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica, Германия).

Таблица | Table

Характеристика первичных антител, использованных для иммуногистохимического окрашивания структурных элементов ПЖ и кишки крысы и человека | Features of primary antibodies used for immunohistochemical detection of structural elements of murine and human pancreas and intestine

Изучаемый антиген Studied antigen	Характеристика антител Antibody feature	Фирма Company	Выявляемые структуры Detectable structures	Взаимодействие антител (виды) Antibody interactions (species)
Белок PGP 9.5 PGP 9.5 protein	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Все нервные структуры (нервные стволы и пучки, нервные сплетения и клетки без учета их медиаторной специфики) All nervous structures (nerve trunks and bundles, nerve plexuses and cells of various neurotransmitters)	Крыса, человек Rat, human
Тирозингидроксилаза Tyrosine hydroxylase	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Abcam, Великобритания Abcam, UK	Катехоламинергические структуры симпатической нервной системы Catecholaminergic structures of the sympathetic nervous system	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Мышиные моноклональные антитела (клон SY 38) Mouse monoclonal antibodies (clone SY 38)	Dako, Дания Dako, Denmark	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	MONOSAN, Нидерланды MONOSAN, Netherlands	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Синаптофизин Synaptophysin	Кроличьи моноклональные антитела (клон SP11) Rabbit monoclonal antibodies (clone SP11)	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Нервные терминалы Nerve terminals	Крыса, человек Rat, human
Серотонин (5-HT) Serotonin (5-HT)	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Leica-Novocastra, Великобритания Leica-Novocastra, UK	Энтерохромаффинные клетки Enterochromaffin cells	Крыса, человек Rat, human
Глиальный фибриллярный кислый белок Glial fibrillar acidic protein	Кроличьи поликлональные антитела (RTU) Rabbit polyclonal antibodies (RTU)	Dako, Дания – Agilent, США Dako, Denmark – Agilent, USA	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human

Окончание таблицы | End table

Изучаемый антиген Studied antigen	Характеристика антител Antibody feature	Фирма Company	Выявляемые структуры Detectable structures	Взаимодействие антител (виды) Antibody interactions (species)
Глиальный фибриллярный кислый белок Glial fibrillar acidic protein	Мышиные моноклональные антитела (клон SPM 507) Mouse monoclonal antibodies (clone SPM 507)	Spring Bioscience, США Spring Bioscience, USA	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human
Белок S100 Protein S100	Кроличьи поликлональные антитела Rabbit polyclonal antibodies	Dako, Дания Dako, Denmark	Глиальные клетки Glial cells	Крыса, человек Rat, human
Альфа-актин Alpha actin	Мышиные моноклональные антитела (клон 1A4) Mouse monoclonal antibodies (clone 1A4)	Dako, Дания Dako, Denmark	Гладкомышечные клетки Smooth muscle cells	Крыса, человек Rat, human
Белок Iba1 Protein Iba1	Поликлональные козы антитела Polyclonal goat antibodies	Abcam, Великобритания Abcam, UK	Макрофаги Macrophages	Крыса, человек Rat, human
CD68	Моноклональные мышиные антитела (клон KP1) Mouse monoclonal antibodies (clone KP1)	Dako, Дания Dako, Denmark	Макрофаги Macrophages	Человек Human
Триптаза тучных клеток Mast cell tryptase	Мышиные моноклональные антитела (клон AA1) Mouse monoclonal antibodies (clone AA1)	BioGenex, США BioGenex, USA	Тучные клетки Mast cells	Человек Human

Результаты

Нервные и глиальные структуры в органах пищеварительной системы крысы в норме

Для отработки протоколов проведения иммуногистохимических реакций, позволяющих выявить нервные структуры органов пищеварительной системы, были изучены фрагменты двенадцатиперстной и ободочной кишки и ПЖ интактных лабораторных крыс Вистар. На парафиновых поперечных срезах кишки и ПЖ проводили ИГХ реакции на белок PGP 9.5, тирозингидроксилазу (TH) и синаптофизин (Syn).

Показано, что специальное сочетание нейроиммуногистохимических методов позволяет оценить симпатическую и парасимпатическую иннервацию поджелудочной железы. С использованием ИГХ реакций на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу были проанализированы последовательные срезы через ПЖ половозрелой крысы (рис. 1). Это позволило идентифицировать TH-негативные холинергические и TH-позитивные катехоламинергические нервные структуры в дольках и соединительной ткани между дольками ПЖ. PGP 9.5-положительными оказываются также клетки островков Лангерганса.

Применение иммуногистохимической реакции на белок PGP 9.5 позволило выявить два ганглиозных сплетения в стенке двенадцатиперстной кишки крысы – межмышечное и подслизистое (рис. 2 А).

Кроме того, в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки определяется третье – ворсинчатое нервное сплетение (рис. 2 В). Межмышечное нервное сплетение находится между циркулярным и продольным гладкомышечными слоями стенки кишки, в нем выявляются крупные, средние и мелкие ганглии, группы и цепочки нейронов встречаются внутри, по ходу нервных стволиков. Количество нейронов в ганглиях различно: от нескольких десятков до сотни. Пучки нервных волокон нейронов этого сплетения участвуют в формировании связей между ганглиями и иннервируют стенку кишки. Подслизистое нервное сплетение представлено узкопетливой сетью нервных пучков и микроганглиев, состоящих из мелких групп нервных клеток, имеющих размеры 25–35 мкм, округлую или грушевидную форму.

С помощью ИГХ реакции на синаптофизин показано, что в межмышечном и подслизистом нервных сплетениях выявляется плотная сеть перичеселлюлярных синаптических аппаратов, окружающих перикарионы нейронов и их дендриты. Многочисленные

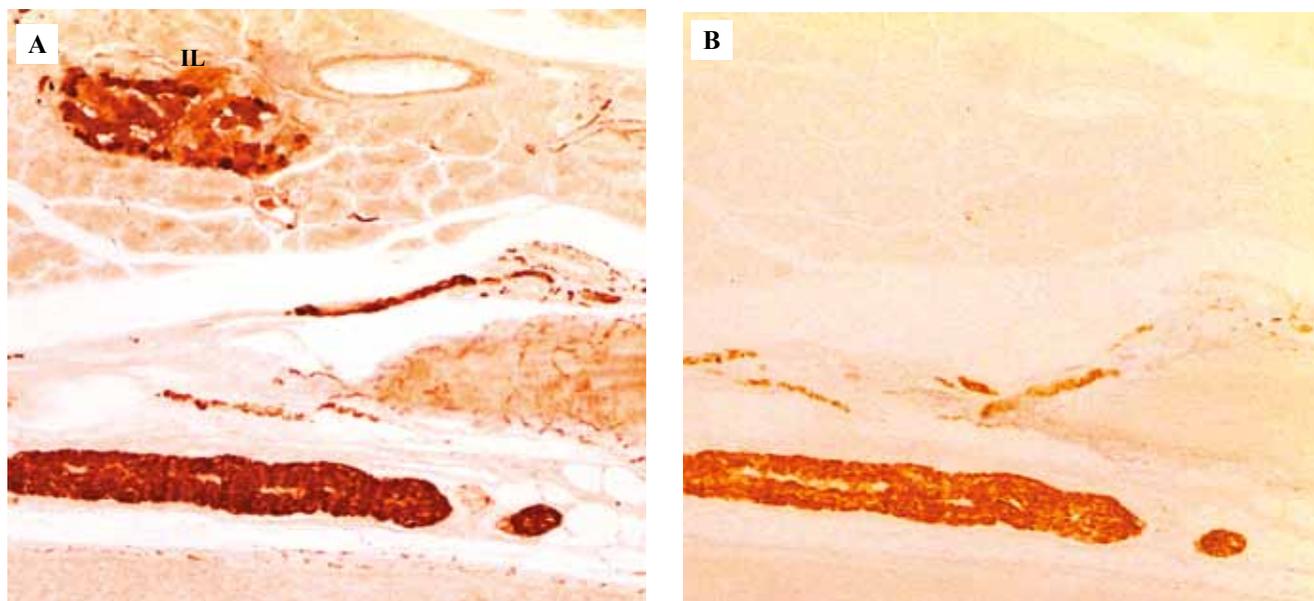


Рис. 1. Иннервация поджелудочной железы крысы.

А, В – последовательные срезы. IL – островок Лангерганса. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (А) и на тирозингидроксилазу (В), $\times 100$

Fig. 1. Innervation of the rat pancreas.

А, В – successive sections. IL – islet of Langerhans. Immunohistochemical reactions to PGP 9.5 protein (А) and TH (В), $\times 100$

синаптофизинпозитивные терминалы наблюдаются в обоих гладкомышечных слоях мышечной оболочки стенки кишки, в мышечной пластинке слизистой оболочки, вокруг артериальных регионарных сосудов (рис. 2 С–Е).

С помощью применения нейронального маркера – тирозингидроксилазы в стенке двенадцатиперстной кишки крысы выявляются симпатические катехоламинергические структуры. Основная масса TH^+ симпатических нервных волокон и их терминалей локализована внутри ганглиозных сплетений. Тонкие варикозные терминалы образуют вокруг нейронов ганглиев сеть из варикозных аксонов, так называемых *epassant-синапсов* (рис. 2 F). Они же найдены вокруг мелких артерий и артериол в межмышечном и подслизистом нервных сплетениях. Следует подчеркнуть, что в ворсинках слизистой оболочки TH^+ симпатические структуры практически отсутствуют. В мышечной оболочке симпатические нервные структуры определяются редко, в значительно меньшем количестве, чем $PGP 9.5^+$ холинергические.

Глиальные клетки энтеральной нервной системы являются наименее изученными структурными элементами. В нашем исследовании показано с использованием специальных маркеров (белок S100 и GFAP), что в стенке кишки крысы большая часть глиальных клеток встречается в межмышечном и подслизистом ганглиозных сплетениях (рис. 3). Глиальные клетки идентифицируются по характерной темно-коричневой окраске ядра, цитоплазмы и отростков. Они в большом количестве наблюдаются вдоль хода аксонов в ганглионарных сплетениях, вокруг перикарионов и дендритных от-

ростков нейронов внутри ганглиев, а также в нервных сплетениях мышечных слоев.

Изменение нервных и глиальных структур в стенке кишки человека при патологии

Как и у лабораторных животных, при иммуногистохимических реакциях на нейрональные маркеры – белок PGP 9.5, синаптофизин, тирозингидроксилазу в разных отделах толстой кишки пациентов с хроническим медленнотранзитным запором нами были выявлены два основных ганглиозных сплетения – миентеральное, или ауэрбахово, и подслизистое, или мейсснерово (рис. 4), а также нервное сплетение слизистой оболочки.

Известно, что безмиелиновые волокна миентерального сплетения в основном являются производными отростков разных типов ганглиозных клеток самого сплетения. Нервные волокна объединяются в стволы и пучки, которые и составляют собственно трехмерную широкопетлистую сеть, окружающую в виде футляра кишечную трубку. Основная роль ганглиозных клеток этого сплетения заключается в иннервации мышечной ткани, обеспечении регуляции моторики и перистальтики кишки. $PGP 9.5^+$ ганглиозное сплетение и его фрагменты располагаются между продольным и циркулярным слоями мышечной оболочки толстой кишки и прослеживаются по всей ее длине в проксимо-дистальном направлении. Средняя толщина тяжелей, составляющих сплетение на поперечных срезах, варьирует от 50 до 150 мкм. Нервные клетки в нем не только располагаются в виде ганглиев, но и встречаются внутри межганглионарных стволков и пучков в виде мелких групп, рядов клеток, цепочек и отдельных клеток.

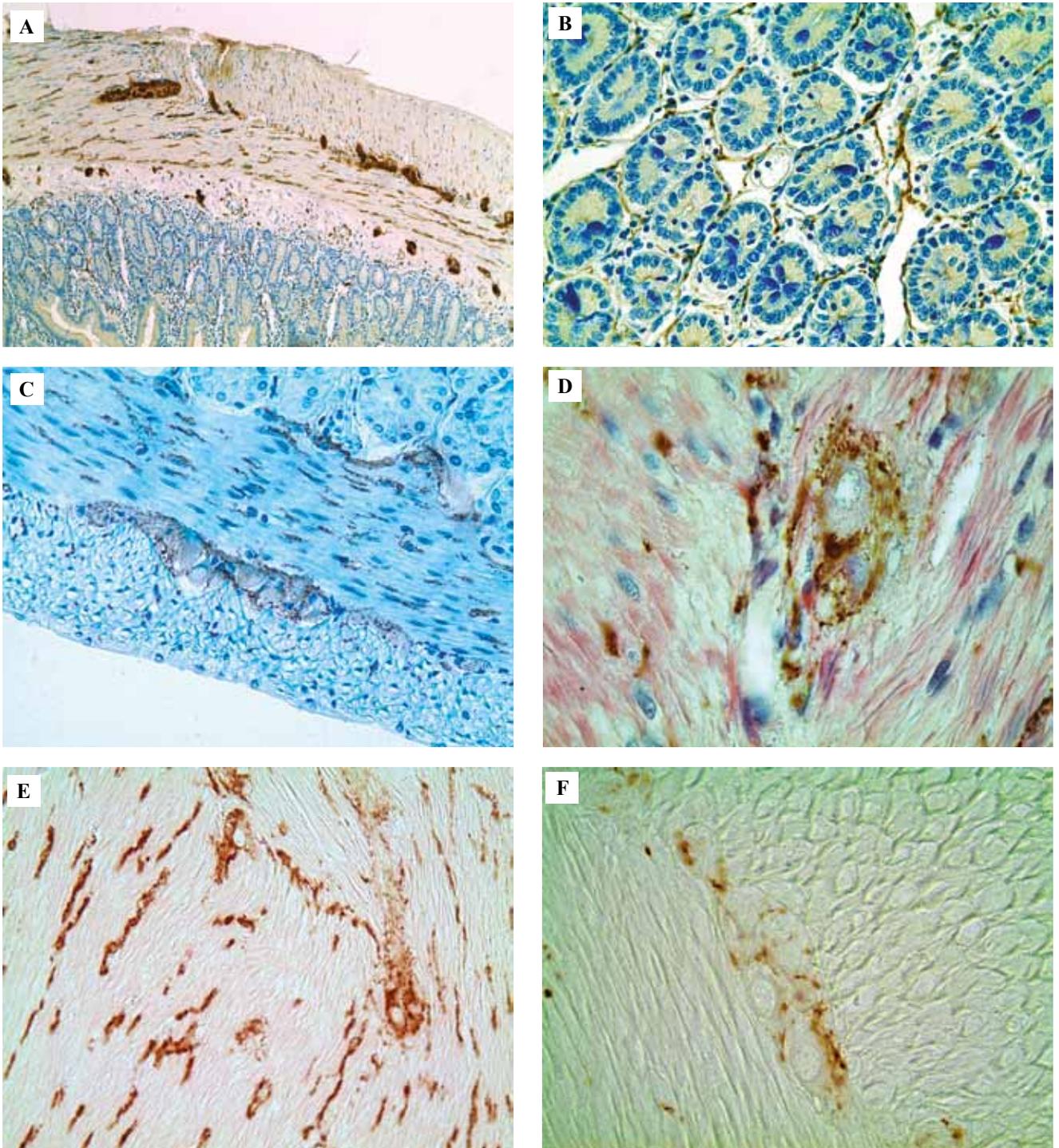


Рис. 2. Нервные структуры в стенке двенадцатиперстной кишки крысы.

А – поперечный срез двенадцатиперстной кишки крысы; В – ворсинчатое нервное сплетение; С, D – густая сеть синатофизиниммунореактивных перичеселлюлярных аппаратов вокруг нейронов ганглиев межмышечного нервного сплетения; Е – терминалы в мышечной ткани стенки кишки и вокруг нейронов; F – катехоламинергические синаптические аппараты вокруг нейронов ганглиозного сплетения. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (А, В), на синатофизин (С–Е), на тирозингидроксилазу (F); подкрашивание толуидиновым синим (А–С) и гематоксилином и эозином (D), $\times 100$ (A), $\times 400$ (B–F)

Fig. 2. Nerve structures in the murine duodenal wall.

A – cross section of the duodenum; B – the nerve plexus in the villus; C, D – a rich network of synaptophysin-immunoreactive pericellular apparatuses around the neurons of the intermuscular plexus; E – catecholaminergic synaptic apparatuses around ganglionic plexus neurons. Immunohistochemical reactions to PGP 9.5 protein (A, B), synaptophysin (C–E), tyrosine hydroxylase (F); with toluidine blue staining (A–C), and hematoxylin and eosin staining (D), $\times 100$ (A), $\times 400$ (B–F)

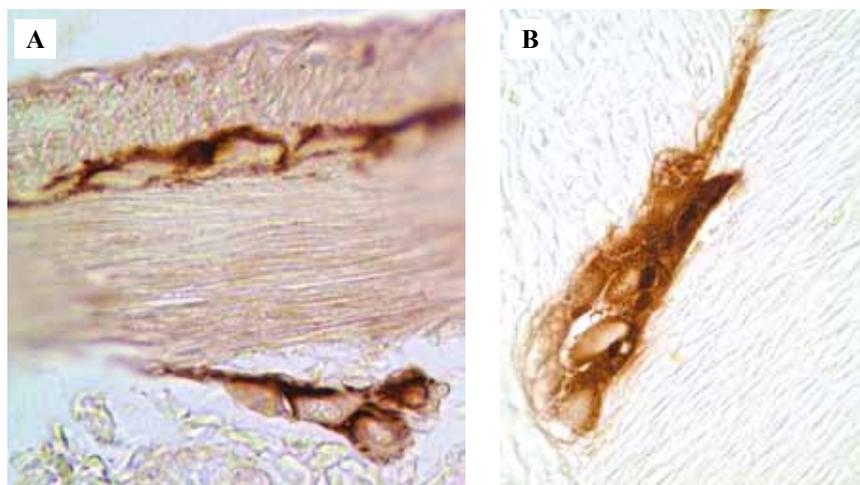


Рис. 3. Глиальные клетки в ганглиях межмышечного и подслизистого сплетений крысы. Иммуногистохимические реакции на глиальный фибриллярный кислый белок (А) и белок S100 (В), $\times 1000$

Fig. 3. Glial cells in the ganglia of the intermuscular and submucosal plexuses in rat. Immunohistochemical reactions for GFAP (A) and S100 protein (B), $\times 1000$

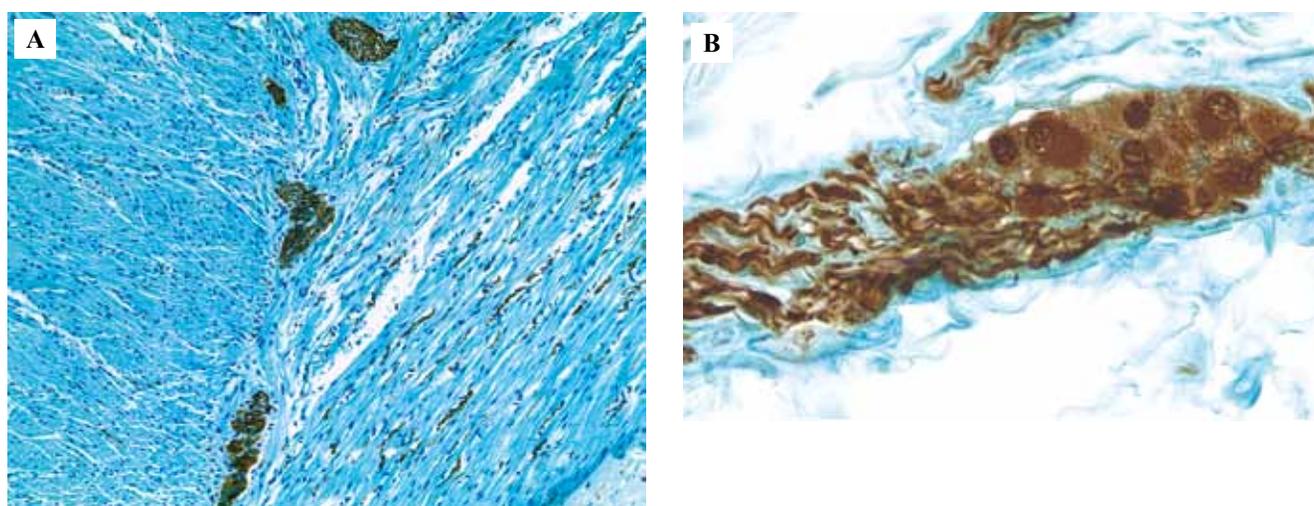


Рис. 4. Общий вид стенки ободочной кишки человека (А) и ганглий межмышечного нервного сплетения (В) ободочной кишки человека. Иммуногистохимическая реакция на PGP 9.5, подкрашивание астровым синим. $\times 100$ (А), $\times 400$ (В)

Fig. 4. General view of the human colon wall (A) and intermuscular nerve plexus ganglia (B) of the human colon. Immunohistochemical reaction to PGP 9.5 with aster blue staining. $\times 100$ (A), $\times 400$ (B)

В некоторых участках ганглиев энтеральной нервной системы наряду с погибшими и патологически измененными клетками наблюдаются небольшие скопления, группы и/или одиночные клетки с характерными морфологическими признаками неизмененных нейронов. Они имеют крупные размеры тела (40–60 мкм в диаметре), неправильную форму, большой объем цитоплазмы, крупное пузырьковидное светлое ядро с одним хорошо различимым ядрышком (рис. 4).

При использовании иммуногистохимической реакции на Syn в ганглиях удастся выявить сеть нервных терминалей в области крипт; можно видеть, что часть варикозных аксонов находится в состоянии зернистого распада (рис. 5 А). Иногда в слизистой оболочке среди энтероцитов выявляются отдельные Syn-содержащие энтерохромаффинные клетки.

Применив ИГХ реакцию на тирозингидроксилазу, нам удалось выявить симпатические нервные

структуры в ганглиозных сплетениях кишки человека (рис. 5 В).

С помощью сравнительного исследования симпатической и парасимпатической иннервации крипт установлено, что у пациентов с ХМТЗ симпатическая иннервация в слизистой оболочке практически отсутствует. На рисунках 6 А и 6 В приведены микрофотографии срезов ободочной кишки пациентки с ХМТЗ в области крипт, на которых видно, что TH⁺ волокна здесь отсутствуют, в отличие от PGP 9.5⁺ (холинергических) волокон.

Количество и локализация глиальных клеток в ганглиях сильно варьируют. В некоторых ганглиях они расположены разреженно, иногда вблизи нервных клеток. В ганглиях с патологически измененными нейронами наблюдаются выраженный глиоз и образование очаговых скоплений глиоцитов (рис. 7). Порой они вплотную окружают нервные клетки. Обнаружены два типа глии: GFAP⁺ и S100⁺.

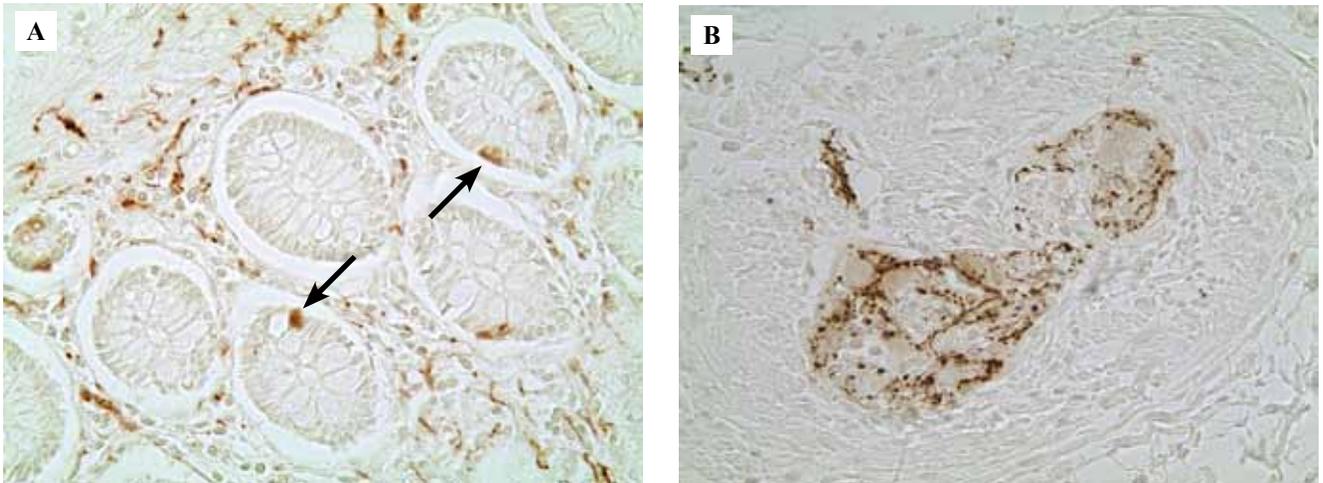


Рис. 5. Нервная сеть варикозных аксонов в слизистой сигмовидной кишке человека (А) и синаптические аппараты вокруг тел измененных нейронов в ганглиях ободочной кишки пациентов с хроническим медленнотранзитным запором (В). Стрелки – энтерохромаффинные клетки. Иммуногистохимическая реакция на синаптофизин (А) и тирозингидроксилазу (В), $\times 400$

Fig. 5. Neural network of varicose axons in the mucosa of the human sigmoid colon (A) and synaptic apparatuses around the neuronal cell bodies in the colon ganglia in patients with chronic slow-transit constipation (B). Arrows – enterochromaffin cells. Immunohistochemical reaction to synaptophysin (A) and tyrosine hydroxylase (B), $\times 400$

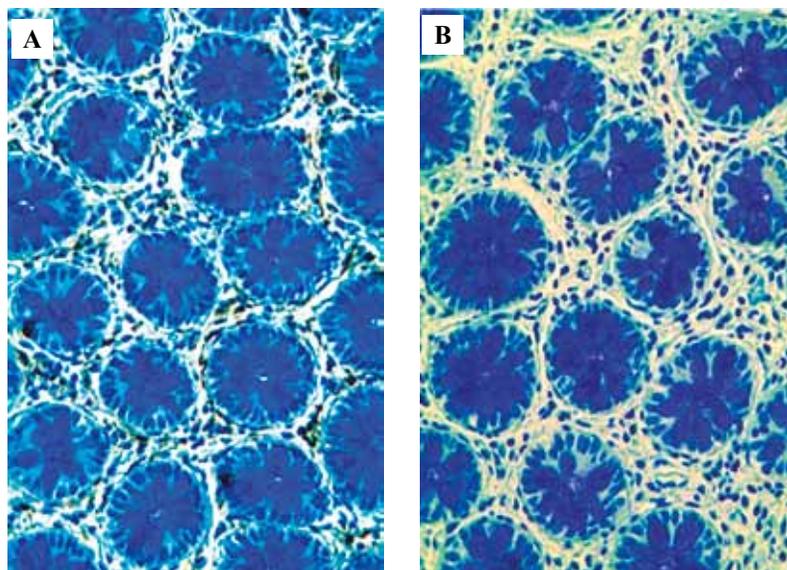


Рис. 6. Сравнительное исследование PGP 9.5⁺ и TH⁺ структур в кишке человека при патологии. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (А) и на тирозингидроксилазу (В), подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 6. Comparative study of PGP 9.5⁺ and TH⁺ structures in the pathological human colon tissues. Immunohistochemical reaction to protein PGP 9.5 (A) and TH (B), toluidine blue staining, $\times 400$

Нередко можно встретить ганглии с дегенерировавшими нейронами (рис. 7 А) и выраженный глиоз (рис. 7 В).

В гладкомышечных слоях стенки ЖКТ крыс и человека также отмечается наличие большого числа глиальных клеток. Топографическое сопоставление ИГХ реакций на PGP 9.5 и на глиальные маркеры показывает, что сети из PGP 9.5⁺ иммунореактивных аксонов и из S100⁺ и GFAP⁺ глиальных клеток образуют единое

терминальное сплетение, состоящее из комплементарных нейроглиальных элементов, так называемых ремиковских волокон.

В собственной пластинке слизистой оболочки кишки человека среди крипт, на месте густой сети PGP 9.5⁺ иммунореактивных варикозных аксонов выявляется комплементарная сеть S100⁺ глиоцитов с отростками. S100⁺ глиоциты встречаются вокруг перикарионов нейронов межмышечного и подслизистого сплетений (рис. 8 А, В).

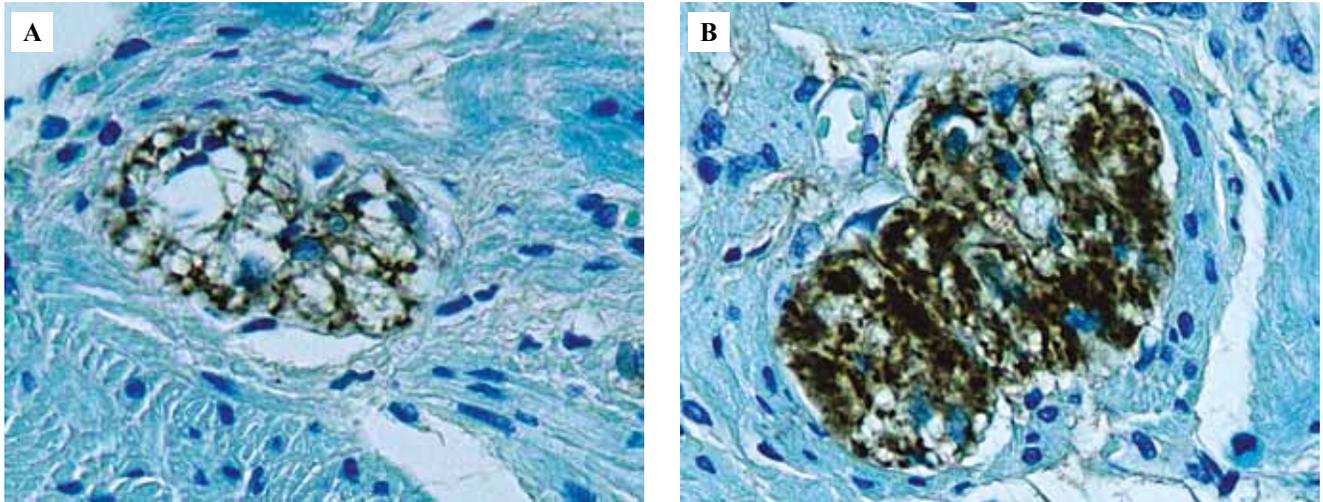


Рис. 7. Глиальные клетки в ганглиях кишки человека (А) и глиозный узелок на месте погибших нервных клеток (В) в ганглиях кишки пациентов с ХМТЗ. Иммуногистохимическая реакция на GFAP, подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 7. Glial cells of the human intestine ganglia (A) and a glial nodule at the site of dead nerve cells (B) in the intestine ganglia of patients with chronic slow transit constipation. Immunohistochemical reaction to GFAP, toluidine blue staining, $\times 400$

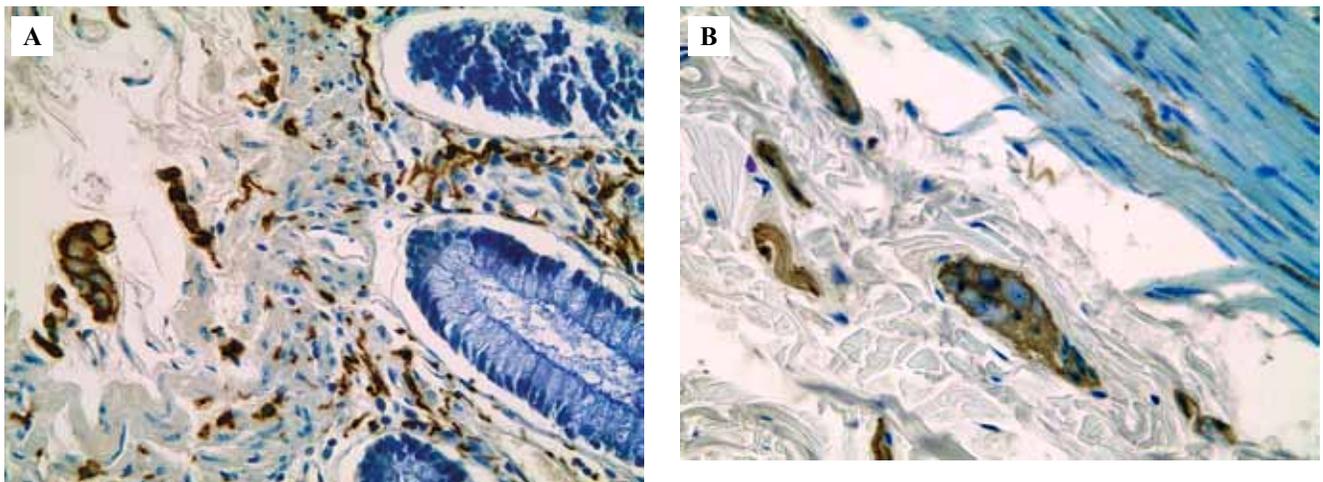


Рис. 8. S100⁺ сети из глиальных клеток в соединительной ткани крипт (А), в мышце и в виде сателлитов вокруг ганглиозных клеток подслизистой оболочки (ободочная кишка человека) (В), $\times 400$

Fig. 8. S100⁺ glial cells in the connective tissue of the crypts (A), in the muscle and around the ganglion cells of the submucosa as satellites [human colon] (B), $\times 400$

Серотонинсодержащие клетки в стенке кишки крысы и человека

Для успешного исследования серотонинсодержащих структур мы использовали антитела к 5-НТ (рис. 9). В качестве фиксирующей жидкости для исследуемого на серотонин материала следует применять 10% раствор формалина. С помощью ИГХ реакции на 5-НТ в стенке двенадцатиперстной кишки крысы были выявлены мелкие (9–15 мкм) серотонинсодержащие энтерохромаффинные клетки. Эти специализированные эндокриноциты имеют разную форму – овальную вытянутую, треугольную, неправильную и размеры от 10 до 15 мкм. Они локализуются главным образом между эпителиальными клетками ворсинок, но часть встречается в соединительной ткани слизистой обо-

лочка. Наличие разных размеров черно-коричневых 5-НТ⁺ гранул в цитоплазме свидетельствует об их секреторной функции.

Анализ срезов толстой кишки человека показал, что серотонинсодержащие энтерохромаффинные клетки в стенке кишечника локализуются преимущественно в эпителии крипт. Вопрос о функции и состоянии серотонинсодержащих структур в стенке кишки человека требует дальнейших углубленных исследований.

Гладкомышечные клетки

С помощью селективной ИГХ реакции на альфа-актин в стенке кишки крысы выявляются тяжи гладкомышечных клеток (ГМК) (рис. 10 А), имеющих

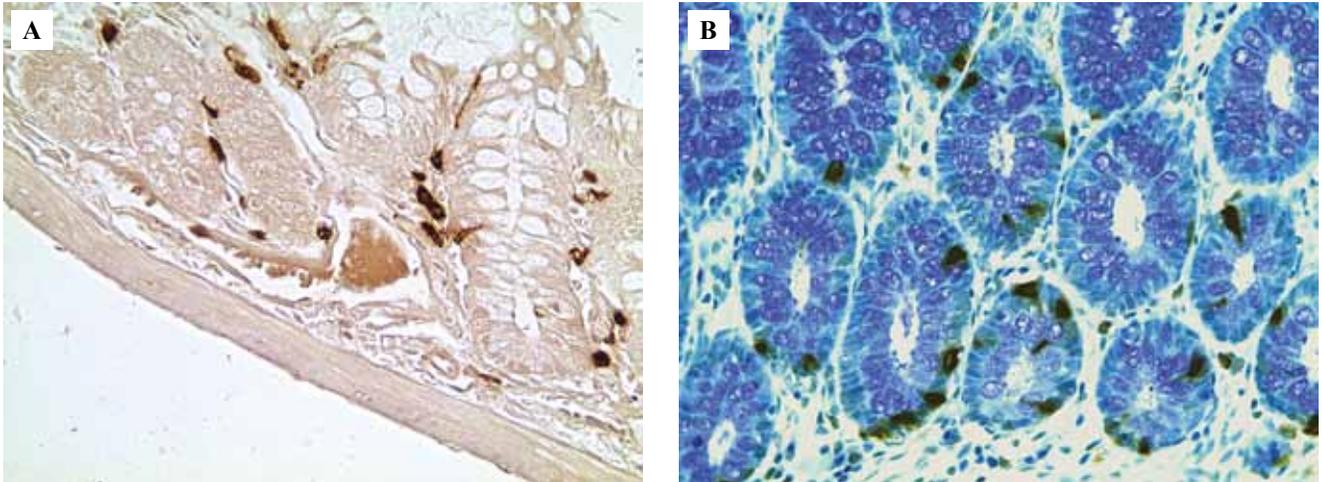


Рис. 9. Серотонинсодержащие клетки в стенке кишки крысы (А) и человека (В). Иммуногистохимическая реакция на серотонин, подкрашивание толуидиновым синим, $\times 400$

Fig. 9. Serotonin-containing cells in the intestinal wall of a rat (A) and a human (B). Immunohistochemical reaction for serotonin with toluidine blue staining, $\times 400$

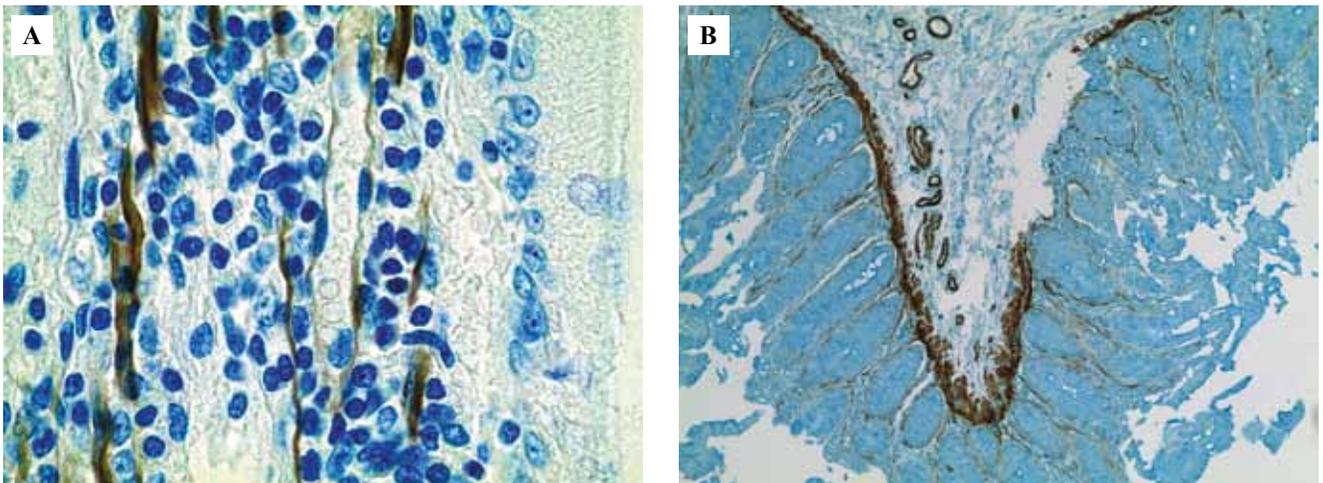


Рис. 10. Топография распределения гладкомышечных элементов в ворсинке стенки двенадцатиперстной кишки крысы (А) и в стенке ободочной кишки человека (В). Взаимоотношения сосудов, лимфоцитов и гладкомышечных клеток в ворсинке (А). Иммуногистохимическая реакция на альфа-актин. Подкрашивание толуидиновым синим (А), астровым синим (В), $\times 400$ (А), $\times 100$ (В)

Fig. 10. Topography of the distribution of smooth muscle cells in the duodenal wall in rat (A) and in the wall of the human colon (B). Relations between vessels, lymphocytes, and smooth muscle cells in the villus (A). Immunohistochemical reaction to alpha-actin. Toluidine blue staining (A), aster blue staining (B), $\times 400$ (A), $\times 100$ (B)

вытянутую форму и палочковидные ядра. Они следуют вдоль варикозных терминальных аксонов и сопровождают кровеносные, лимфатические сосуды и капилляры. Обращает на себя внимание, что Syn^+ терминальные аксоны, описанные нами ранее, находятся в тесных взаимоотношениях с ГМК и предположительно образуют с ними нейромышечные синапсы.

Селективный маркер гладкомышечных клеток альфа-актин позволил исследовать распределение ГМК в ободочной и сигмовидной кишке человека при патологии (рис. 10 В).

Маркеры клеток воспаления

Мы обнаружили редкие группы триптазосодержащих тучных клеток (ТК) в области основания крипт ободочной и сигмовидной кишки пациентов с ХМТЗ (рис. 11 А). По плотности популяции ТК можно судить о степени воспаления. Чаще всего они встречаются в рыхлой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки. Примененные нами антитела селективны к клеткам человека и не выявляют ТК у крыс.

Для исследования популяции клеток, относящихся к моноцитарно-макрофагальной линии, были приме-

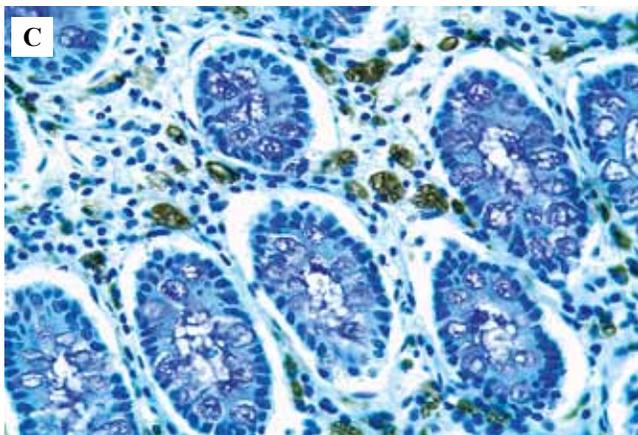
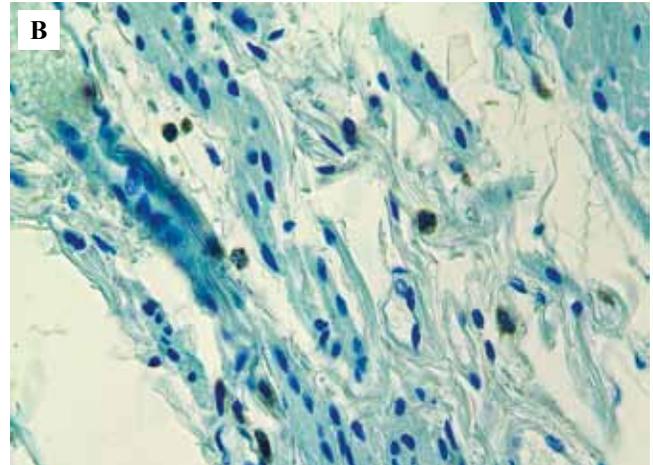
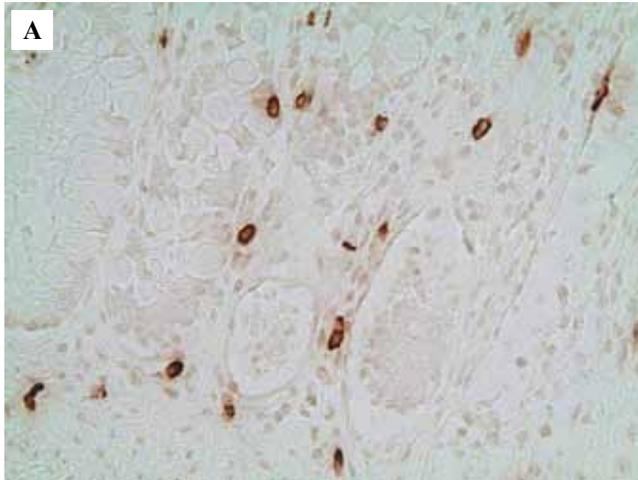


Рис. 11. Тучные клетки (А) и макрофаги (В, С) в стенке ободочной кишки человека. Иммуногистохимические реакции на триптазу (А) и на белок CD68 (В, С), подкрашивание толуидиновым синим (В, С), $\times 400$

Fig. 11. Mast cells (A) and macrophages (B, C) in the human colon. Immunohistochemical reaction to tryptase (A) and CD68 protein (B, C) with toluidine blue staining (B, C), $\times 400$

нены два маркера – CD68 (рис. 11 В, С) и белок Iba1. CD68 относится к интегральным трансмембранным белкам и экспрессируется на поверхности клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Анализ распределения макрофагов в стенке ободочной и сигмовидной кишки человека показал, что в стенке кишки пациентов с ХМТЗ CD68⁺ макрофаги встречаются в собственной пластинке, в подслизистой основе слизистой оболочки и в слоях мышечной оболочки, но распределяются по слоям неравномерно. Клетки с небольшим округлым или овальным ядром, размером 7–8 мкм в диаметре, располагаются в основном вблизи кровеносных сосудов в периваскулярной рыхлой соединительной ткани среди лейкоцитарных клеток (рис. 11 В). Отдельные макрофагальные клетки встречаются по периметру интрамуральных ганглиев. Иногда можно видеть CD68⁺ моноциты в полости кровеносных сосудов. Основная масса макрофагов концентрируется в собственной пластинке слизистой оболочки, в соединительной ткани крипт. Многие из таких макрофагов достигают размеров до 20–30 мкм, имеют центрально расположенное ядро и пенистую цитоплазму (рис. 11 С).

Клетки, содержащие кальцийсвязывающий белок Iba1, локализуются в основном в соединительной ткани крипт. Отдельные клетки встречаются по периферии ганглиев межмышечного ганглиозного сплетения.

Обсуждение

В настоящей работе показано, что в органах пищеварительной системы крыс применение нейрональных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин) и глиальных (GFAP и белок S100) маркеров позволяет идентифицировать не только нервные структурные элементы (нейроны, нервные пучки, нервные сплетения, терминальные сети различной медиаторной природы), но и различные типы глии.

Сравнительное исследование с помощью ИГХ реакции на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу позволяет выделить в нервных стволах поджелудочной железы и кишечника симпатические (PGP 9.5⁻/TH⁺) и парасимпатические (PGP 9.5⁺/TH⁻) нервные волокна. Было подтверждено, что в ганглиозных сплетениях стенки тонкой и толстой кишки симпатические нейроны отсутствуют.

С помощью иммуногистохимических реакций на синаптофизин, тирозингидроксилазу и белок PGP 9.5 в предыдущих исследованиях нами было показано, что с возрастом в эндокринных отделах и нервных структурах ПЖ крыс наблюдаются существенные изменения [6]. У старых крыс выявлены снижение общего количества островков Лангерганса и выраженная денервация тканей ПЖ. Отмечено уменьшение числа нейронов интрамуральных ганглиев, нервных стволов

и пучков, а также эфферентных парасимпатических и симпатических терминалей вокруг кровеносных сосудов и выводных протоков. Таким образом, было установлено снижение нейротрофического влияния симпатической и парасимпатической нервной системы на ПЖ при старении.

Следует отметить, что использование ИГХ реакций для выявления нейрональных и глиальных маркеров без дополнительного окрашивания срезов позволяет оценивать селективно выявляемые нервные и глиальные элементы и их взаимоотношения, а также проводить количественный анализ и морфометрические исследования этих структур.

Для изучения взаимоотношений нервных структур с клетками окружающих тканей мы рекомендуем использовать в качестве подкрашивания срезов толуидиновый синий, астровый синий или гематоксилин–эозин. На подкрашенных препаратах можно осуществлять анализ межтканевых взаимоотношений – нервно-мышечных, нервно-эпителиальных, нервно-сосудистых. Гистохимическое окрашивание толуидиновым синим позволяет также исследовать взаимоотношения нервных структур с воспалительными клетками инфильтратов, оценивать степень выраженности воспаления.

Наименее изученными структурными элементами энтеральной нервной системы являются глиальные клетки. В настоящее время активно ведутся исследования глии периферической нервной системы [8, 9], поскольку она выполняет множество функций, среди которых трофическая, барьерная, защитная и другие. Глиальные элементы нервных ганглиозных сплетений мы исследовали с помощью ИГХ выявления GFAP и белка S100. Эти реакции позволяют исследовать изменения в глиоцитах и в нейроглиальных взаимоотношениях. Ранее в работах, выполненных с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и иммуногистохимии [10, 11], в ганглиях энтеральной нервной системы животных и человека обнаружен уникальный тип глии – астроцитоподобные клетки, сходные по строению и функции с астроцитами центральной нервной системы, а также нейролеммоциты и шванновские клетки, свойственные вегетативным ганглиям. Среди GFAP⁺ астроцитоподобных элементов можно дифференцировать два вида клеток: мелкие – фиброзные и более крупные – плазматические глиальные клетки. Последние определяются по гомогенной цитоплазме и сильно уплощенным «разлапистым» отросткам. В настоящем исследовании отмечено, что в ганглиях с патологически измененными нейронами наблюдаются выраженный глиоз и образование очаговых скоплений глиоцитов. Эти факты согласуются с известными данными литературы об участии глиальных клеток в процессах гибели нейронов [10–13].

В гладкомышечных слоях стенки ЖКТ крыс и человека нами также было отмечено наличие большого числа глиальных клеток. Топографическое сопоставление ИГХ реакций на PGP 9.5 и на глиальные маркеры

показывает, что сети из PGP 9.5⁺ иммунореактивных аксонов и из S100⁺ и GFAP⁺ глиальных клеток образуют единое терминальное сплетение из комплементарных нейроглиальных элементов, так называемых ремаковских волокон. Последние состоят из тончайших аксонов различной медиаторной природы, заключенных в «глиальный синцитий», описанный известными нейроморфологами еще в прошлом столетии. Разные исследователи описывают их как интерстициальные клетки Кахалы или дендритные клетки [14–16].

Применение нейрональных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин) и глиальных (GFAP и белок S100) маркеров позволяет идентифицировать нервные структуры в стенке толстой кишки человека, а также выявлять их патологические изменения у пациентов с ХМТЗ. Показано, что при развитии заболевания наблюдаются дистрофические и дегенеративные изменения нейронов, деструктивные изменения нервных проводников, зернистый распад терминалей. Исследование глии периферической нервной системы в настоящее время особо актуально, что связано с важной ролью этих клеток в нормальном функционировании нейронов миентерального и подслизистого сплетений.

Известно, что ХМТЗ наряду с такими социально значимыми заболеваниями как болезнь Крона, синдром раздраженного кишечника, язвенный колит сопровождается развитием воспалительных процессов в подслизистой основе и собственной пластинке слизистой оболочки. Для исследования воспалительных процессов мы воспользовались несколькими методами ИГХ выявления моноцитов/макрофагов и тучных клеток.

Как известно, ТК обеспечивают жизненно важные функции тканей и органов, а также, инициируя воспаление, участвуют в патогенезе многих заболеваний кишечника. Одним из методов выявления ТК на гистологических срезах является ИГХ реакция на синтезируемые ими ферменты – химазу и триптазу. В настоящем исследовании мы обнаружили редкие группы триптазосодержащих ТК в области основания крипт ободочной и сигмовидной кишки пациентов с ХМТЗ. По плотности популяции ТК можно судить о степени воспаления. Чаще всего они встречаются в рыхлой соединительной ткани подслизистой основы слизистой оболочки. Известно, что в иммуногистохимических исследованиях, касающихся определения химаз и триптаз, для адекватного их выявления следует учитывать видовые различия распределения этих протеаз в тучных клетках млекопитающих и человека [17]. Нужно отметить, что примененные нами антитела селективны к клеткам человека и не выявляют ТК у крыс.

Для выявления клеток моноцитарно-макрофагального ряда были применены антитела к белку CD68 и белку Iba1. CD68 относится к интегральным трансмембранным белкам и экспрессируется на

поверхности клеток моноцитарно-макрофагального ряда [18]. Кальцийсвязывающий белок Iba1 содержится в клетках микроглии и в тканевых макрофагах разных органов [19]. Используемые в настоящей работе антитела к триптазе и белку CD68 являются селективными для клеток человека и не выявляются в клетках грызунов.

С помощью антител к альфа-актину были изучены гладкомышечные клетки в стенке кишки крысы и человека. Отмечена взаимосвязь ГМК с Syn⁺ терминальными аксонами. Факты обнаружения в ворсинках терминалей варикозных аксонов и их тесных связей с клетками рыхлой соединительной ткани и эндотелием лимфатических сосудов и капилляров свидетельствуют о том, что нервные структуры внутри ворсинок могут участвовать не только в регуляции моторной, рецепторной и нейротрофической функций, но и в поддержании гомеостаза слизистой оболочки, которая служит первым тканевым барьером на границе с кишечной полостью и микробиотой.

Примененные в настоящей работе антитела к альфа-актину позволяют селективно выявлять гладкомышечные клетки в материале, полученном и от крысы, и от человека. По локализации ГМК в ворсинках кишки можно сделать выводы об их тесной связи с варикозными аксонами, иннервирующими ворсинки, а также эндотелием лимфатических сосудов и капилляров.

Заключение

В работе представлены результаты применения основных иммуногистохимических маркеров, позволяющих исследовать иннервацию органов пищеварительной системы. Протоколы окрашивания тканей человека с применением нейральных (белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин, серотонин) и глиальных (глиальный фибриллярный кислый белок и белок S100) маркеров были первоначально отработаны нами на материале, полученном от лабораторных животных. Показано, что комплекс этих маркеров позволяет идентифицировать все нервные структуры в органах пищеварительной системы крыс: нейроны, нервные пучки, нервные сплетения, терминальные сети различной медиаторной природы.

В дальнейшем оказалось, что большинство из них с учетом особенностей фиксации применимо для изучения кишечника человека и позволяет проводить оценку изменений нервных структур в толстой кишке пациентов с хроническим медленнотранзитным запором. Показано, что сравнительное исследование препаратов с ИГХ реакцией на белок PGP 9.5 и тирозингидроксилазу помогает различить симпатические (PGP 9.5-/TH⁺) и парасимпатические (PGP 9.5⁺/TH⁻) структуры. Отмечено, что симпатические нейроны отсутствуют в изученном материале.

Установлено, что отработанные ИГХ методы дают возможность оценивать иннервацию кишечной стен-

ки и особенности ее изменения при патологии. В работе показано, что для подкрашивания препаратов с ИГХ реакциями на соответствующие белки следует использовать несколько гистологических красителей – толуидиновый синий, астровый синий и гематоксилин–эозин. На подкрашенных препаратах можно осуществлять анализ не только выявленных иммунопозитивных структур, но и окружающих их тканей. Это дает возможность изучить морфологию и локализацию, а также нейроглиальные, нервно-мышечные, нервно-эпителиальные, нервно-сосудистые взаимоотношения. Кроме того, гистохимическое окрашивание толуидиновым синим позволяет исследовать взаимоотношения нервных элементов с лейкоцитами, а также проявление нейрогенного воспаления. Дополнительное применение специальных ИГХ маркеров клеток воспаления – моноцитов/макрофагов и тучных клеток – показало, что с их помощью можно детально описать особенности развития воспалительного процесса в слизистой оболочке кишки.

В работе дана оценка применению различных антител, подчеркиваются их видоспецифичность и зависимость результата иммуногистохимической реакции от фиксирующих жидкостей.

Описанная методология перспективна для использования в экспериментальной гистологии и клинико-морфологической диагностике.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Д.Э. Коржевский, Е.И. Чумасов.

Сбор и обработка материала – В.Б. Самедов, Е.С. Петрова, Е.А. Колос.

Написание текста – Е.И. Чумасов, Д.Э. Коржевский.

Редактирование – Д.Э. Коржевский.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – D.E. Korzhevskii, E.I. Chumasov.

Collected the data and performed the analysis – V.B. Samedov, E.S. Petrova, E.A. Kolos.

Wrote the paper – E.I. Chumasov, D.E. Korzhevskii.

Edited the manuscript – D.E. Korzhevskii.

Литература/References

1. *Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н., Лысанюк М.В.* Диагностика и хирургическое лечение нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта. *Анналы хирургической гепатологии*. 2016;21(1):13–20. DOI: 10.16931/1995-5464.2016113-20.
Maystrenko NA, Romashchenko PN, Lysanyuk MV. Diagnosis and surgical treatment of neuroendocrine tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*. 2016;21(1):13–20 (In Russ.). DOI: 10.16931/1995-5464.2016113-20.
2. *Сазонов А.А., Майстренко Н.А., Ромащенко П.Н.* Молекулярно-биологические аспекты прогнозирования онкологической эффективности циторедуктивных операций при метастатическом раке толстой кишки. *Вестник Российской Военно-*

- медицинской академии. 2021;23(3):61–66. DOI: 10.17816/brmma73188.
- Sazonov AA, Maistrenko NA, Romashchenko PN.* Molecular and biological aspects of forecasting the oncological efficiency of cytoreductive surgery in metastatic colon cancer. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2021;23(3):61–66. DOI: 10.17816/brmma73188.
3. *Кривова Ю.С., Прощина А.Е., Отлыга Д.А., Савельев С.В.* Применение антител к везикулярному транспортеру ацетилхолина и ацетилхолинэстеразе в исследованиях пренатального развития парасимпатической иннервации поджелудочной железы человека. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2020;9(3):27–33. DOI: 10.31088/CEM2020.9.3.27-33. *Krivova YS, Proshchina AE, Otylga DA, Saveliev SV.* Application of antibodies to the vesicular transporter of acetylcholine and acetylcholinesterase in the studies of prenatal development of parasympathetic innervation of the human pancreas. *Clinical and experimental morphology.* 2020;9(3):27–33 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2020.9.3.27-33.
 4. *Кривова Ю.С., Прощина А.Е., Отлыга Д.А., Савельев С.В.* Распределение виментина в эпителиальных клетках поджелудочной железы человека в период внутриутробного развития. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2017;2(22):21–27. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29946262> (получено 08.08.2022). *Krivova YuS, Proshchina AE, Otylga DA, Saveliev SV.* Distribution of vimentin in the human pancreatic epithelial cells during prenatal development. *Clinical and experimental morphology.* 2017;2(22):21–27 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29946262> (accessed 08.08.2022).
 5. *Krivova YS, Proshchina AE, Barabanov VM, Barinova IV, Saveliev SV.* Immunohistochemical detection of vimentin in pancreatic islet β - and α -cells of macrosomic infants of diabetic and nondiabetic mothers. *Early Hum Dev.* 2018;117:44–9. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2017.12.009.
 6. *Чумасов Е.И., Колос Е.А., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.* Иммуногистохимия периферической нервной системы. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2020. 111 с. Доступно по адресу: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-01086-2/978-5-299-01086-2.pdf> (получено 11.07.2022). *Chumasov EI, Kolos EA, Petrova ES, Korzhevskii DE.* Immunohistochemistry of the peripheral nervous system. Saint Petersburg, SpecLit, 2020. 111 p. (In Russ.). Available from: <https://speclit.ru/image/catalog/978-5-299-01086-2/978-5-299-01086-2.pdf> (accessed 11.07.2022).
 7. *Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.* Исследование иннервации двенадцатиперстной кишки крысы с использованием нейтральных иммуногистохимических маркеров. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2020;106(7):853–865. DOI: 10.31857/S0869813920100039. *Chumasov EI, Petrova ES, Korzhevskii DE.* Study of the rat duodenal innervations using immunohistochemical markers. *Russian Journal of Physiology.* 2020;106(7):853–865. DOI: 10.31857/S0869813920100039.
 8. *Grundmann D, Loris E, Maas-Omlor S, Huang W, Scheller A, Kirchoff F et al.* Enteric glia: S100, GFAP, and beyond. *Anat Rec (Hoboken).* 2019;302(8):1333–44. DOI: 10.1002/ar.24128.
 9. *Yuan R, Bhattacharya N, Kenkel JA, Shen J, DiMaio MA, Bagchi S et al.* Enteric glia play a critical role in promoting the development of colorectal cancer. *Front Oncol.* 2020;10:595892. DOI: 10.3389/fonc.2020.595892.
 10. *Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, Schiedeck TH, Krammer HJ et al.* Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum.* 2002;45(1):54–62. DOI: 10.1007/s10350-004-6114-3.
 11. *Gulbransen BD, Sharkey KA.* Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(11):625–32. DOI: 10.1038/nrgastro.2012.138.
 12. *Жаботинский Ю.М.* Нормальная и патологическая морфология нейрона. Ленинград: Медицина, 1965. 328 с. *Zhabotinsky YuM.* Normal and pathological neuron morphology. Leningrad: Medizina, 1965. 328 p. (In Russ.).
 13. *Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н.* Патологические и приспособительные изменения нейронов. Москва: Медицина, 1973. 191 с. *Yarygin NE, Yarygin VN.* Pathological and adaptive changes in neurons. Moscow: Medicine, 1973. 191 p. (In Russ.).
 14. *Лаврентьев Б.И.* Теория строения вегетативной нервной системы: избранные труды. Москва: Медицина, 1983. 256 с. *Lavrentiev BI.* Theory of the structure of the autonomic nervous system: best studies. Moscow: Medicine, 1983. 256 p. (In Russ.).
 15. *Маркова В.И., Марков И.И., Ваньков В.А., Севрюгина Г.А.* Синцитиальные связи нейроцитов – есть ли они в ганглиях межмышечного и подслизистого сплетения кишечника? *Морфологические ведомости.* 2017;25(1):23–25. Доступно по адресу: <https://www.morpholetter.com/jour/article/view/11> (получено 11.07.2022). *Markova BI, Markov II, Vankov VA, Sevryugina JA.* Neurocyte syncytial connections: are they found in ganglia of the intermuscular and of the submucous intestine plexuses? *Morphological newsletter.* 2017;25(1):23–25 (In Russ.). Available from: <https://www.morpholetter.com/jour/article/view/11> (accessed 11.07.2022).
 16. *Сотников О.С., Сергеева С.С., Васягина Т.И.* Нейронально-глиальные мембранные контакты при пессимальной электростимуляции. *Морфологические ведомости.* 2020;28(3):35–50. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3)35-50. *Sotnikov OS, Sergeeva SS, Vasyagina TI.* Neuronal-glia membrane contacts during pessimal electrical stimulation. *Morphological newsletter.* 2020;28(3):35–50. DOI: 10.20340/mv-mn.2020.28(3)35-50.
 17. *Grigorev IP, Korzhevskii DE.* Modern imaging technologies of mast cells for biology and medicine (review). *Sovrem Tehnologii Med.* 2021;13(4):93–107. DOI: 10.17691/stm2021.13.4.10.
 18. *Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, Gordon S, Simmons DL.* Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J Biol Chem.* 1993;268(13):9661–6. PMID: 8486654.
 19. *Enderes J, Malleth S, Schneider R, Hupa KJ, Lysson M, Schneider B et al.* A population of radio-resistant macrophages in the deep myenteric plexus contributes to postoperative ileus via toll-like receptor 3 signaling. *Front Immunol.* 2021;11:581111. DOI: 10.3389/fimmu.2020.581111.

Информация об авторах

Евгений Иванович Чумасов – доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Елена Сергеевна Петрова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Вадим Бейбалаевич Самедов – адъюнкт при кафедре факультетской хирургии имени С.П. Федорова Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова.

Елена Андреевна Колос – научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Дмитрий Эдуардович Коржевский – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины.

Author information

Evgeny I. Chumasov – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Senior Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<http://orcid.org/0000-0003-4859-6766>

Elena S. Petrova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0003-0972-8658>

Vadim B. Samedov – Post-graduate student, S.P. Fedorov Faculty of Surgery, S.M. Kirov Military Medical Academy.

<https://orcid.org/0000-0002-4002-6913>

Elena A. Kolos – Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-9643-6831>

Dmitry E. Korzhevskii – Dr. Sci. (Med), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Local Morphology, Institute of Experimental Medicine.

<https://orcid.org/0000-0002-2456-8165>

II научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества «Лучевая диагностика для патологической анатомии и судебно-медицинской экспертизы: от прижизненной к посмертной»

II Scientific and Practical Conference of the Interregional Thanatoradiological Society “Radiology for anatomical pathology and forensic medicine: from intravital to postmortem”

7–8 октября 2022 года в Москве на базе Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» прошла II научно-практическая конференция Межрегионального танаторадиологического общества (МТО) «Лучевая диагностика для патологической анатомии и судебно-медицинской экспертизы: от прижизненной к посмертной». В работе конференции приняли участие более 150 специалистов – патологоанатомов, судебно-медицинских экспертов и рентгенологов из разных регионов Российской Федерации.

Состоялись четыре заседания: «Научные достижения в области посмертных лучевых исследований» (председатели: член-корреспондент РАН Л.М. Михалева, Д.Н. Услонцев, профессор А.И. Щеголев), «Лучевая диагностика для патологической анатомии и судебно-медицинской экспертизы: возможности и стремления» (председатели: член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, профессор А.В. Ковалев, доктор медицинских наук У.Н. Туманова), «Танаторадиология в клинической практике» (председатели: профессор В.А. Клевно, профессор А.И. Щеголев), «Правовые аспекты и организационный вектор посмертных лучевых исследований в России» (председатели: профессор Е.М. Кильдюшов, доктор медицинских наук У.Н. Туманова, профессор А.И. Щеголев). На заседаниях были представлены

доклады, посвященные истории и особенностям современного использования посмертных лучевых исследований в разных странах, правовым основам и возможностям применения танаторадиологических исследований в патологоанатомической и судебно-медицинской практике в Российской Федерации. Участники конференции узнали об успехах и перспективах использования методов лучевой диагностики в области посмертных исследований отечественных специалистов, ознакомились с особенностями исследования и ошибками интерпретации результатов прижизненной и посмертной лучевой диагностики, обсудили требования и ожидаемые результаты от лучевых исследований для последующей работы патологоанатома и судебно-медицинского эксперта. Присутствующие со вниманием заслушали доклады С.Ю. Пупыкина «Актуальные решения для СМЭ в современных условиях» (ООО «БиоВитрум») и Д.В. Аксенова «Текущая ситуация с поставками продукции для патологоанатомических исследований отдельных производителей» (ООО «БиоЛайн») и ознакомились с выставкой современных расходных материалов и оборудования для патологоанатомических отделений и бюро судебно-медицинской экспертизы.

В рамках конференции был заслушан отчет А.И. Щеголева о работе Межрегионального танаторадиологического общества в 2021–2022 годах, утверждены новые члены экспертного совета общества





(профессор О.В. Зайратьянц, кандидат медицинских наук С.Э. Дуброва, Ю.В. Чумакова), а также подведены итоги творческого конкурса, победителями которого стали В.А. Синицына, Е.Р. Фролова и У.Н. Туманова.

В рамках конференции состоялось заседание круглого стола на тему «Танаторadiология: реальные возможности организации и практического использования в системе отечественного здравоохранения» (модератор и ведущий: кандидат медицинских наук А.Ю. Васильев, сопредседатели: член-корреспондент РАН Л.В. Кактурский, профессор Ф.Г. Забозлаев, профессор Е.М. Кильдюшов, профессор С.С. Кузнецов, профессор А.И. Щеголев), посвященное выбору наиболее оптимального пути развития танаторadiологии в нашей стране. На заседании развернулась оживленная дискуссия, итогами которой были признаны необходимость внедрения танаторadiологических исследований в практику патологоанатомических отделений и бюро судебно-медицинской экспертизы, целесообразность научных исследований для определения новых технологий и диагностических возможностей при посмерт-



ных лучевых исследованиях, необходимость внесения танаторadiологических исследований в нормативно-правовые документы (Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», Федеральный закон от 31.05.2001 № 73-ФЗ «О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации», приказ Минздрава России от 06.06.2013 № 354н «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий», профессиональный стандарт «Врач-патологоанатом»), а также осуществления дополнительного образования рентгенологов особенностям посмертных лучевых исследований посредством школ и обучающих курсов.

Материалы конференции представлены на сайте Межрегионального танаторadiологического общества (www.thanatoradiology.ru) и в сборнике печатных работ, размещенном в Российской научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU.

*А.И. Щеголев,
У.Н. Туманова*