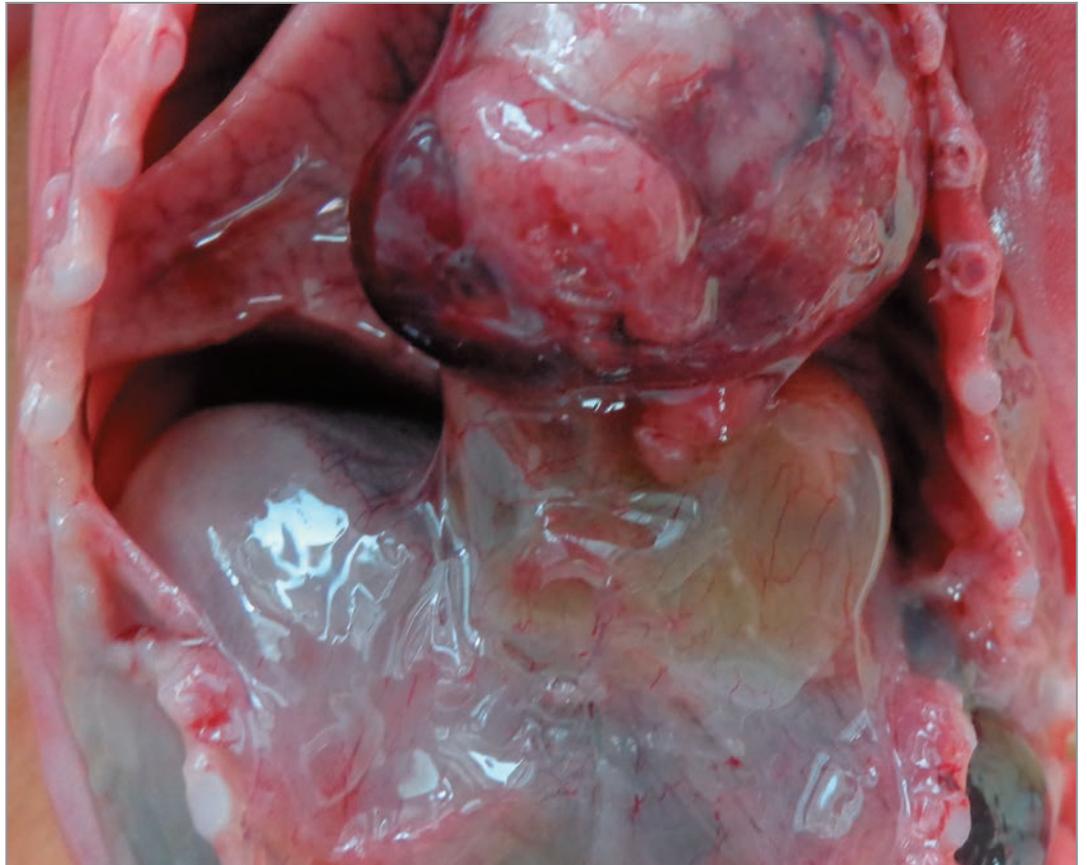


# АРХИВ ПАТОЛОГИИ АРКНІВ ПАТОЛОГІЇ



**5**

2022 Том 84

Основа в 1935 г.

**Российская академия наук**

**Российское общество патологоанатомов**

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

«Arkiv patologii» (Archive of Pathology) is a bimonthly peer-reviewed medical journal published by MEDIA SPHERA Publishing Group. Founded in 1935

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

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

**Издательство «Медиа Сфера»:**

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

**Адрес для корреспонденции:**

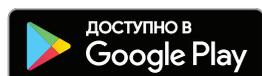
127238 Москва, а/я 54, Медиа Сфера  
Отдел рекламы: (495) 482-0604  
E-mail: reklama@mediasphera.ru  
Отдел подписки: (495) 482-5336  
E-mail: zakaz@mediasphera.ru

**Адрес редакции:**

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

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

*Рис. на обложке к статье И.В. Бариновой и соавт. «Тератомы средостения плода. Описание двух наблюдений»*



Подписной индекс по каталогу «Почты России» ПП289

Подписано в печать 27.09.2022  
Формат 60×90 1/8. Тираж 2000 экз.  
Усл. печ. л. 9. Заказ 22-Z-1189  
Отпечатано в ООО «МЕДИАКОЛОР»

# АРХИВ ПАТОЛОГИИ ARKHIV PATOLOGII

**Том 84      сентябрь—октябрь      5'2022**

**ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор Г.А. Франк, акад. РАН

А.Ю. Абросимов, д.м.н., проф.

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

Н.М. Аничков, член-корр. РАН

В.П. Быкова, д.м.н., проф.

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

О.В. Зайратьянц, д.м.н., проф.

А.А. Иванов, д.м.н., проф.

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

А.И. Карселадзе, д.м.н., проф.

А.В. Кононов, д.м.н., проф.

Ю.А. Криволапов, д.м.н., проф.

О.В. Макарова, д.м.н., проф.

П.Г. Мальков, д.м.н., проф.

Г.Н. Маслякова, д.м.н., проф.

А.П. Милованов, д.м.н., проф.

О.Д. Мишнев, д.м.н., проф.

Е.М. Пальцева, д.м.н., проф. РАН

С.А. Повзун, д.м.н., проф.

С.Г. Раденска-Лоповок, д.м.н., проф.

М.В. Рыжова, д.м.н.

Т.А. Федорина, д.м.н., проф.

А.Л. Черняев, д.м.н., проф.

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ф. Брэнтон (Бетесда, США)

В. Ениш (Берлин, ФРГ)

Д.Д. Зербино (Львов, Украина)

Ю.Р. Зюзя (Москва)

А. Кваас (Кельн, ФРГ)

А.Г. Коршунов (Гейдельберг, ФРГ)

К. Лапиш (Будапешт, Венгрия)

А. Лломбарт-Бош (Барселона,

Испания)

Б.А. Магрупов (Ташкент,  
Узбекистан)

Б. Натвани (Лос-Анджелес,  
США)

Ю.Н. Соловьев (Москва)

В.А. Туманский (Запорожье,  
Украина)

Д. Хармс (Киль, ФРГ)

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

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

Founded in 1935

«Arkhiv patologii» (Archive of Pathology)

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

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

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

**Media Sfera Publishing Group:**

46-2, Dmitrovskoe Sh., Floor 4  
Moscow 127238  
Phone: 7 (495) 482-4329  
Fax: (495) 482-4312  
E-mail: [info@mediasphera.ru](mailto:info@mediasphera.ru)  
[www.mediasphera.ru](http://www.mediasphera.ru)

**Correspondence address:**

Post office box 54, Media Sfera, Moscow 127238  
Advertising department:  
Phone: 7 (495) 482-0604  
E-mail: [reklama@mediasphera.ru](mailto:reklama@mediasphera.ru)  
Subscription department  
Phone: 7 (495) 482-5336  
E-mail: [zakaz@mediasphera.ru](mailto:zakaz@mediasphera.ru)

**Address of the Editorial Office:**

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



# ARKHIV PATOLOGII ARCHIVE OF PATHOLOGY

**Volume 84 September—October 5'2022**

A BIMONTHLY SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

## EDITORIAL BOARD

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

Prof. A.Yu. Abrosimov, MD  
Yu.Yu. Andreeva, MD (Executive Secretary)  
N.M. Anichkov, Corr. Member of the Russian Academy of Sciences  
Prof. V.P. Bykova, MD  
Prof. I.N. Voloshchuk, MD (Executive Secretary)  
Prof. O.V. Zayratyants, MD  
Prof. A.A. Ivanov, MD  
L.V. Kakturskiy, Corr. Member of the Russian Academy of Sciences  
(Deputy Editor-in-Chief)  
Prof. A.I. Karseladze, MD  
Prof. A.V. Kononov, MD  
Prof. Yu.A. Krivolapov, MD  
Prof. O.V. Makarova, MD  
Prof. P.G. Malkov, MD  
Prof. G.N. Maslyakova, MD  
Prof. A.P. Milovanov, MD  
Prof. O.D. Mishnev, MD  
Prof. E.M. Paltseva, MD, Prof. of the Russian Academy of Sciences  
Prof. S.A. Povzun, MD  
Prof. S.G. Radenska-Lopovok, MD  
M.V. Ryzhova, MD  
Prof. T.A. Fedorina, MD  
Prof. A.L. Chernyaev, MD

## EDITORIAL REVIEW BOARD

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

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

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ***Славинский А.А., Веревкин А.А.*

Нарушение продукции молекул тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии как ранний диагностический маркер отторжения сердечного трансплантата ..... 5

*Олейникова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г.*

Мультиплексная флуоресцентная визуализация опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке ..... 11

*Порубаева Э.Э., Пачуашили Н.В., Урусова Л.С.*

Мультифакторная оценка прогностических особенностей адренокортикального рака ..... 20

**В ПОМОЩЬ ПРАКТИЧЕСКОМУ ВРАЧУ***Белкин А.Н., Фрейд Г.Г.*

Новое в Классификации новообразований легких и плевры (ВОЗ, 2021 г., 5-е издание) ..... 28

*Коган Е.А., Варшавский В.А., Щелокова Е.Е., Чичкова Н.В., Фоминых Е.В., Осадчая В.А., Фомин В.В.*

Аденокарцинома легкого на фоне обычной интерстициальной пневмонии ..... 35

*Рыжова М.В., Шайхаев Е.Г., Снигирева Г.П., Горельшев С.К., Желудкова О.Г., Голанов А.В.*Новый тип слияния генов *BRAF::EPB41L2* в пилоидной астроцитоме задней черепной ямки. Краткое сообщение ..... 40*Ермилов В.В., Смирнов А.В., Дорофеев Н.А., Григорьева Н.В., Тарасова Н.В., Кушнирук П.И., Карадже М., Барканов В.Б., Чернецкий О.А., Поплавский А.Э., Нестерова А.А., Лозовик В.В., Сомова В.В.*

COVID-19-ассоциированный мукомрикоз в офтальмологической практике Волгоградского региона ..... 43

*Баринова И.В., Андреева Е.Н., Фаттахов А.Р., Аксенова А.А., Милованова С.Н., Степнова С.В., Брусенцова Ю.В., Ефимкова Е.Б.*

Тератомы средостения плода. Описание двух наблюдений ..... 50

**ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ***Сальков В.Н., Воронков Д.Н., Худоерков Р.М.*

Роль ртути и мышьяка в этиологии и патогенезе болезней Паркинсона и Альцгеймера ..... 59

*Кузнецова А.В., Попова О.П., Астахов Д.А., Иванов Ю.В., Панченков Д.Н., Иванов А.А.*

Эпителиально-стромальные взаимодействия в аденокарциноме поджелудочной железы: роль стромы в прогрессировании заболевания ..... 65

**НЕКРОЛОГ**

Памяти профессора Георгия Борисовича Ковальского ..... 71

**ORIGINAL INVESTIGATIONS**

<i>Slavinsky A.A., Verevkin A.A.</i> Impaired production of platelet-endothelial cell adhesion molecules as an early diagnostic marker of heart transplant rejection . . . . .	5
<i>Oleynikova N.A., Kharlova O.A., Danilova N.V., Malkov P.G.</i> Multiplex fluorescent imaging of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer . . . . .	11
<i>Porubayeva E.E., Pachuashvili N.V., Urusova L.S.</i> Multifactorial assessment of prognostic features of adrenocortical cancer . . . . .	20

**GUIDELINES FOR THE PRACTITIONER**

<i>Belkin A.N., Freynd G.G.</i> A new one in the lung and pleura neoplasms classification (WHO, 2021, 5 <sup>th</sup> edition) . . . . .	28
<i>Kogan E.A., Varshavsky V.A., Shchelokova E.E., Chichkova N.V., Fominykh E.V., Osadchaya V.A., Fomin V.V.</i> Adenocarcinoma of the lung against the background of usual interstitial pneumonia . . . . .	35
<i>Ryzhova M.V., Shaikhaev E.G., Snigireva G.P., Gorelyshev S.K., Zheludkova O.G., Golanov A.V.</i> Novel <i>BRAF::EPB41L2</i> gene fusion in posterior fossa pilocytic astrocytoma. Brief communication . . . . .	40
<i>Ermilov V.V., Smirnov A.V., Dorofeev N.A., Grigor'eva N.V., Tarasova N.V., Kushniruk P.I., Karadzhe M., Barkanov V.B., Chernetsky O.A., Poplavsky A.E., Nesterova A.A., Lozovik V.V., Somova V.V.</i> COVID-19-associated mucormycosis in ophthalmological practice in the Volgograd region . . . . .	43
<i>Barinova I.V., Andreeva E.N., Fattakhov A.R., Aksenova A.A., Milovanova S.N., Stepnova S.V., Brusentsova Yu.V., Efimkova E.B.</i> Fetal mediastinal teratomas. Report of two cases . . . . .	50

**REVIEWS OF LITERATURE**

<i>Salkov V.N., Voronkov D.N., Khudoerkov R.M.</i> The role of mercury and arsenic in the etiology and pathogenesis of Parkinson's and Alzheimer's diseases . . . . .	59
<i>Kuznetsova A.V., Popova O.P., Astakhov D.N., Ivanov Y.V., Panchenkov D.N., Ivanov A.A.</i> Epithelial-stromal interactions in pancreatic adenocarcinoma: the role of stroma in disease progression . . . . .	65

**OBITUARY**

In memory of Professor Georgy Borisovich Kovalsky . . . . .	71
---	----

## Нарушение продукции молекул тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии как ранний диагностический маркер отторжения сердечного трансплантата

© А.А. СЛАВИНСКИЙ, А.А. ВЕРЕВКИН

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Выявить вовлеченность молекул тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии PECAM-1 в патогенез отторжения пересаженного сердца и определить значимость маркера CD31 для биопсийной диагностики формы и степени выраженности процесса.

**Материал и методы.** Срезы из эндомикардиальных биоптатов 56 реципиентов сердца окрашивали гематоксилином и эозином; стрептавидин-биотиновым методом определяли экспрессию Т-лимфоцитов (CD3), В-лимфоцитов (CD20), макрофагов (CD68) и C4d-компонента комплемента для установления формы и степени отторжения трансплантата. Дополнительно выявляли экспрессию PECAM-1 (CD31). С помощью компьютерной морфометрии в цифровых изображениях измеряли площадь патологических изменений и зоны экспрессии CD31 с вычислением коэффициента площади окрашивания.

**Результаты.** Наиболее высокие показатели экспрессии PECAM-1 обнаружены при отсутствии реакции отторжения сердечного трансплантата. Степень отторжения 1R характеризуется снижением экспрессии в 1,3 раза, когда в миокарде нет сколько-нибудь существенных признаков некроза, площадь которого резко нарастает при степени 2R в 163,7 раза, а при 3R в 570,7 раза по сравнению с 1R. Процесс протекает параллельно с дальнейшим снижением уровня экспрессии CD31 и сопровождается развитием геморрагических проявлений. Интенсивность кровоизлияний в миокарде увеличивается в 7,3 раза при степени 3R по сравнению с 1R.

**Заключение.** Экспрессия PECAM-1 отражает состояние сосудистого русла сердечного трансплантата. Ее снижение можно рассматривать как ранний патоморфологический маркер отторжения пересаженного сердца. Экспрессия CD31 продолжает уменьшаться с нарастанием тяжести отторжения и сопровождается прогрессирующим развитием некроза и кровоизлияний в сердечной мышце трансплантата.

**Ключевые слова:** трансплантация сердца, отторжение, эндомикардиальная биопсия, молекулы клеточной адгезии, компьютерная морфометрия.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Славинский А.А. — <https://orcid.org/0000-0001-9824-9186>

Веревкин А.А. — <https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

Автор, ответственный за переписку: Славинский А.А. — e-mail: [pathology@ksma.ru](mailto:pathology@ksma.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Славинский А.А., Веревкин А.А. Нарушение продукции молекул тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии как ранний диагностический маркер отторжения сердечного трансплантата. *Архив патологии*. 2022;84(5):5–10.

<https://doi.org/10.17116/patol2022840515>

## Impaired production of platelet-endothelial cell adhesion molecules as an early diagnostic marker of heart transplant rejection

© А.А. SLAVINSKY, А.А. VEREVKIN

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

### ABSTRACT

**Objective.** Reveal the involvement of platelet-endothelial cell adhesion molecules PECAM-1 in the transplanted heart rejection pathogenesis and determine the CD31 marker significance for biopsy diagnostics of the process form and degree.

**Material and methods.** Sections from endomyocardial biopsies of 56 heart transplant recipients were stained with hematoxylin and eosin. The streptavidin-biotin method was used to determine the expression of T-lymphocytes (CD3), B-lymphocytes (CD20), macrophages (CD68) and the C4d component of complement to determine the form and degree of graft rejection. Additionally, the expression of platelet-endothelial cell adhesion molecules PECAM-1 (CD31) was detected. Using computer morphometry in digital images, the area of pathological changes and the area of CD31 expression was measured with the calculation of the staining area coefficient.

**Results.** The highest levels of PECAM-1 expression were found in the absence of a heart transplant rejection. The degree of rejection of 1R is characterized by a decrease in expression by 1.3 times, when there are no significant signs of necrosis in the myocardium, the area of which increases sharply at degree 2R by 163.7 times, and at 3R by 570.7 times compared with 1R. The process proceeds in parallel with a further decrease in the level of CD31 expression and is accompanied by the development of hemorrhagic manifestations. The intensity of hemorrhages in the myocardium increases by 7.3 times with grade 3R compared with 1R.

**Conclusion.** Expression of PECAM-1 reflects the state of the vascular bed of the heart transplant. Its decrease can be considered as an early pathomorphological marker of transplanted heart rejection. The expression of CD31 continues to decrease with increasing severity of rejection and is accompanied by the progressive development of necrosis and hemorrhages in the graft heart muscle.

**Keywords:** heart transplantation, rejection, endomyocardial biopsy, cell adhesion molecules, computed morphometry.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Slavinsky A.A. — <https://orcid.org/0000-0001-9824-9186>

Verevkin A.A. — <https://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

**Corresponding author:** Slavinsky A.A. — e-mail: [pathology@ksma.ru](mailto:pathology@ksma.ru)

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Slavinsky AA, Verevkin AA. Impaired production of platelet-endothelial cell adhesion molecules as an early diagnostic marker of heart transplant rejection. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):5–10. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2022840515>

Молекула тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии первого типа — platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), или CD31, представляет собой мембранный гликопротеин, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов. Эти молекулы входят в состав межклеточных контактов эндотелия, содержатся на поверхности тромбоцитов и лейкоцитов циркулирующей крови. PECAM-1 состоит из двух субъединиц — внутриклеточной и внеклеточной. Внеклеточная имеет 6 иммуноглобулиноподобных доменов (IgD1—IgD6). Домены 1 и 2 обеспечивают соединение молекул адгезии на поверхности соседних эндотелиоцитов [1–3]. Прочность этого соединения усиливается, если с доменом IgD6 связываются иммуноглобулины [4]. Внутриклеточная субъединица способна подвергаться альтернативному сплайсингу, который обуславливает различие ее структуры и функции в клетках разного происхождения [5]. Комплекс внутриклеточной субъединицы с тирозинфосфатазой способен ингибировать апоптоз эндотелиальных клеток [6]. PECAM-1 регулирует проницаемость сосудистой стенки и управляет миграцией лейкоцитов в очаг воспаления [7–9].

Экспериментальные данные [10] указывают на участие неэндотелиальных молекул адгезии в отторжении аллотрансплантатов сердца у мышей. Роль PECAM-1 в отторжении пересаженного сердца остается недостаточно изученной, а определение экспрессии CD31 не входит в протокол исследования эндомикардиальных биоптатов при диагностике формы и степени отторжения.

Цель исследования — выявить вовлеченность молекул тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии PECAM-1 в патогенез отторжения пересаженного сердца и определить значимость маркера CD31 для биопсийной диагностики формы и степени выраженности процесса.

## Материал и методы

Пациенты после трансплантации сердца обследованы во время проведения плановых биопсий, а также при экстренной госпитализации с подозрением на отторжение трансплантата. Исследовано 257 эндомикардиальных биоптатов, полученных от 56 реципиентов (39 мужчин и 17 женщин в возрасте от 29 лет до 61 года), которым произведена трансплантация сердца в ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1» Краснодара. До пересадки сердца у всех пациентов была диагностирована терминальная стадия сердечной недостаточности вследствие ишемической болезни сердца (60%), дилатационной кардиомио-

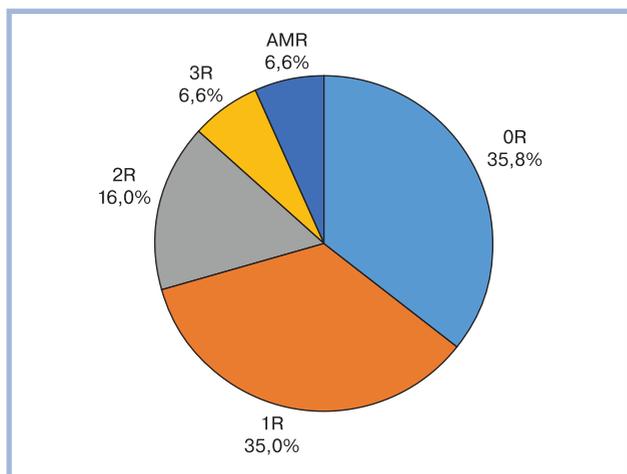
патии (29%), другой кардиальной патологии (11%). Среди сопутствующих заболеваний преобладали гипертоническая болезнь (46% пациентов, из них у 80% диагностирован риск IV степени), а также сахарный диабет (35%). В исследование включены реципиенты после 1,5 мес, прошедших со дня трансплантации, из-за возможных тяжелых осложнений раннего послеоперационного периода. Из исследования исключены реципиенты с поражением коронарных артерий трансплантата, фибрилляцией сердца, выраженной гипертрофией миокарда по данным эхокардиографии.

При проведении эндомикардиальной биопсии из миокарда правого желудочка кардиохирурги захватывали до 5 кусочков ткани и фиксировали 10% нейтральным формалином. Характер и степень тяжести отторжения пересаженного сердца определяли в соответствии с критериями Международного общества трансплантации сердца и легких ISHLT [11, 12]. Выраженность патоморфологических изменений оценивали в парафиновых срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином. Кроме того, иммуногистохимическим (ИГХ) стрептавидин-биотиновым методом определяли экспрессию Т-лимфоцитов (CD3), В-лимфоцитов (CD20) и макрофагов (CD68) для характеристики воспалительного клеточного инфильтрата, а также C4d-компонента комплемента в качестве маркера антителоопосредованного отторжения. Дополнительно определяли экспрессию PECAM-1 (CD31).

Отсутствие отторжения трансплантата — нулевая степень (0R) установлена при анализе 92 (35,8%) биопсий (рис. 1). Легкая степень клеточного отторжения (1R) выявлена в 90 (35%) биоптатах. Картина умеренного клеточного отторжения (2R) присутствовала в 41 (16%) биоптате, тяжелого — в 17 (6,6%). Признаки антителоопосредованного отторжения (AMR) обнаружены также в 17 (6,6%) образцах.

Компьютерная морфометрия с применением программного обеспечения ImageJ («US National Institutes of Health», США) включала измерение относительной площади патологических изменений (некроз, кровоизлияния), а также зоны экспрессии ИГХ-маркера CD31 в цифровых изображениях срезов, полученных с помощью микроскопа Axio Scope A1 и камеры AxioCam ERc5s («Karl Zeiss», Германия). Определяли общую площадь среза и суммарную площадь в нем цветного продукта с вычислением коэффициента площади окрашивания (КПО) [13] по формуле:  $m/s \cdot 100\%$ , где  $m$  — суммарная площадь (в мм<sup>2</sup>) цветного продукта в срезе;  $s$  — общая площадь среза (в мм<sup>2</sup>).

Статистический анализ результатов исследования выполнен с помощью компьютерной программы MedCalc



**Рис. 1.** Структура реакций отторжения трансплантированного сердца.

**Fig. 1.** Structure of transplanted heart rejection reactions.

Statistical Software («Ostend», Бельгия). Результаты морфометрических измерений, описанные с использованием медианы, нижнего и верхнего квартилей, представлены в виде Me [Q1; Q3]. Для определения достоверности различий применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Для оценки корреляционно-регрессионных отношений использовали критерий Спирмена.

## Результаты исследования

В морфологической картине миокарда при остром клеточном отторжении трансплантата отмечалась воспалительная клеточная инфильтрация с присутствием в составе инфильтрата Т-лимфоцитов (CD3+), В-лимфоцитов (CD20+) и преобладанием макрофагов (CD68+), что сопровождалось признаками повреждения кардиомиоцитов. Клеточный инфильтрат в трансплантатах с нулевой степенью отторжения отсутствовал или был представлен единичными элементами; признаки повреждения кардиомиоцитов не выявлены. Легкая степень клеточного отторжения отличалась единичными локусами повреждения мышечных клеток, связанными, как правило, с одним очагом мононуклеарного инфильтрата. Для умеренного клеточного отторжения были характерны множественные локусы эндомиокардиального повреждения в ассоциации с очагами лимфомакрофагальной инфильтрации. При тяжелом клеточном отторжении обнаружены диффузная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами с появлением нейтрофильных лейкоцитов, а также очаги кровоизлияний. Картина анти-

телоопосредованного отторжения (AMR) характеризовалась выраженным отеком, васкулитом и интравазальным скоплением макрофагов.

Лимфоциты и макрофаги присутствовали в воспалительном инфильтрате всех трансплантатов. В ряде случаев отмечено сочетание CD3- и CD20-позитивных клеток в одних и тех же участках миокарда; это можно считать признаком смешанного клеточно-гуморального отторжения. В мононуклеарном воспалительном инфильтрате сердечного трансплантата Т-лимфоциты преобладают при всех степенях тяжести клеточного отторжения, а также при антителоопосредованной форме, которая характеризуется и наиболее выраженной экспрессией маркеров В-лимфоцитов. Максимальное присутствие макрофагов в воспалительном инфильтрате миокарда указывает на тяжелое клеточное отторжение.

Компонент комплемента С4d имеет диффузную экспрессию в очагах воспаления, располагаясь внеклеточно преимущественно под эндокардом и эндотелием сосудов. Выраженность экспрессии умеренно возрастала по мере увеличения тяжести клеточного отторжения, однако при антителоопосредованной форме была существенно выше. При этом депозиты С4d имели диффузный характер и располагались не только периваскулярно, но и между кардиомиоцитами.

Некротические изменения не выявлены в трансплантатах без отторжения и характеризовались минимальной выраженностью в биоптатах реципиентов с легкой степенью клеточного отторжения, при этом морфометрические показатели (КПО) не имели статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ). В остальных случаях участки некроза, различные по площади, располагались диффузно почти во всех полях зрения (рис. 2, а).

По данным компьютерной морфометрии (см. таблицу; рис. 3) суммарная площадь некротических очагов в микропрепаратах возрастала при степени 2R в 163,7 раза, а при 3R в 570,7 раза по сравнению с легкой степенью клеточного отторжения ( $p < 0,05$ ). При антителоопосредованном отторжении участки некроза кардиомиоцитов совпадали с периваскулярным отеком миокарда, а их выраженность была в 2,3 раза меньше таковой при тяжелом клеточном отторжении.

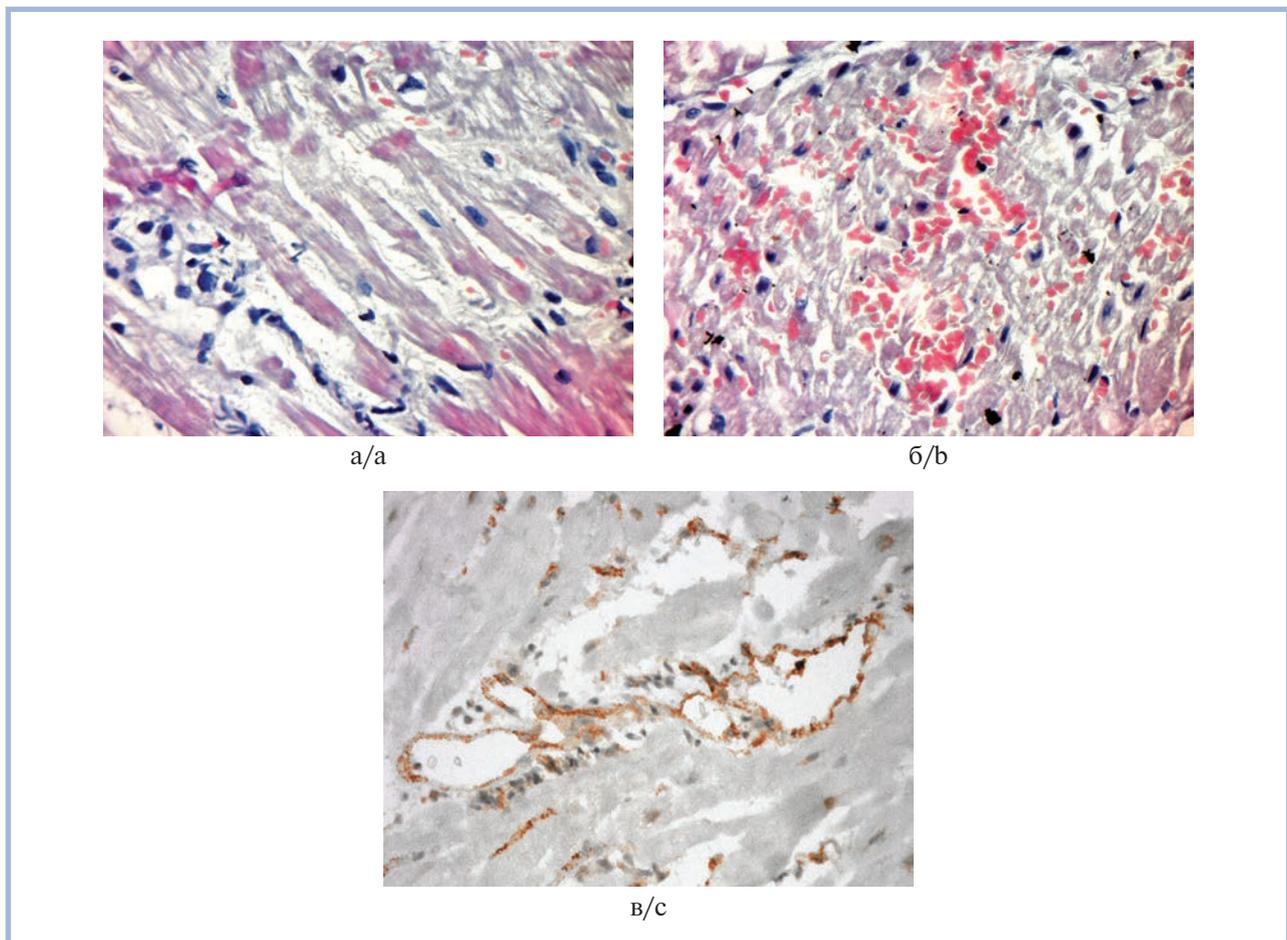
Кровоизлияния из мелких сосудов миокарда (рис. 2, б) отмечены главным образом у реципиентов с умеренной и тяжелой степенью клеточного отторжения. В то же время незначительно выражены они и при нулевой степени — менее 1% площади биоптата, что, по-видимому, обусловлено механическим повреждением ткани в ходе проведения биопсии. Однако показатель КПО кровоизлияний (см. таблицу; рис. 4) закономерно возрастает в биоптатах со степенью 1R в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ), при степени 2R в 12,4 раза ( $p < 0,05$ ), а при 3R в 17,5 раза ( $p < 0,05$ ). Выраженность кровоизлияний у пациентов с антителоопосредованным отторжением

## Компьютерная морфометрия изменений в миокарде сердечного трансплантата при отторжении

### Computer morphometry of changes in the cardiac transplant myocardium in its rejection

Показатель	КПО (Me [Q1; Q3]), %				
	0R (n=92)	1R (n=90)	2R (n=41)	3R (n=17)	AMR (n=17)
Некроз	0	0,03 [0,01; 0,06]	4,91* [4,53; 5,35]	17,12* [16,81; 17,19]	7,37* [7,09; 7,49]
Кровоизлияния	0,80 [0,71; 0,90]	1,92* [1,81; 2,10]	9,93* [9,90; 10,00]	14,01* [13,92; 14,16]	3,22* [3,10; 3,34]
PECAM-1 (CD31)	3,51 [3,40; 3,62]	2,72* [2,70; 2,75]	2,02* [1,90; 2,15]	1,41* [1,33; 1,56]	0,81* [0,65; 0,92]

*Примечание.* \* — достоверное различие от предшествующей группы;  $p < 0,05$ .



**Рис. 2.** Изменения в миокарде пересаженного сердца.

а — некроз; б — кровоизлияние в зоне некроза; в — экспрессия CD31.

а, б — окраска гематоксилином и эозином; в — ИГХ-реакция; а—в —  $\times 40$ .

**Fig. 2.** Changes in the myocardium of the transplanted heart.

а — necrosis; б — hemorrhage in the area of necrosis; в — expression of CD31.

а, б — H&E staining; в — IHC reaction. а—с —  $\times 40$ .

в 4,4 раза меньше по сравнению с тяжелой степенью клеточного отторжения ( $p < 0,05$ ).

Экспрессия CD31 (рис. 2, в) определяется в эндотелии сосудов, значительно меньше — в строме миокарда, на поверхности макрофагов и лимфоцитов. Компьютерная морфометрия (см. таблицу; рис. 5) выявила снижение выраженности экспрессии PECAM-1 по мере возрастания интенсивности отторжения трансплантата. В биоптатах пациентов без отторжения занимаемая CD31-позитивными клетками площадь среза составляет 3,51 [3,40; 3,62]%. При легкой степени клеточного отторжения этот показатель уменьшается в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), при умеренном отторжении — в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а при тяжелом — в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ). Гуморальное отторжение (AMR) сопровождается снижением показателя в 4,3 раза ( $p < 0,05$ ) и минимальным его значением 0,81 [0,65; 0,92]% площади биоптата.

Таким образом, наиболее высокие показатели экспрессии PECAM-1 (CD31) обнаружены при отсутствии реакции отторжения сердечного трансплантата (степень 0R). Однако уже при легкой степени клеточного отторжения (1R) экспрессия снижается в 1,3 раза при отсутствии в миокарде сколько-нибудь существенных признаков некроза.

Эти признаки тем не менее резко нарастают при степени 2R в 163,7 раза, а при 3R в 570,7 раза по сравнению со степенью 1R. Процесс протекает параллельно с дальнейшим снижением уровня экспрессии CD31 (при степени 3R — в 2,5 раза, а при AMR — в 4,3 раза).

Статистический корреляционно-регрессионный анализ выявил сильную обратную связь между экспрессией CD31 и выраженностью некроза в биоптатах ( $r = -0,7169$ , коэффициент детерминации 0,5139;  $p = 0,033$ ). Корреляционное отношение для пары CD31/некроз составило  $\eta = 0,82$ , а для пары некроз/CD31 —  $\eta = 0,14$ . Следовательно, именно снижение экспрессии CD31 приводит к увеличению выраженности некротических изменений, а не наоборот. Коэффициент детерминации  $\eta^2 = 67,24\%$  указывает на то, что 67,24% от общего вклада факторов, вызывающих некроз в сердечной мышце, приходится на снижение экспрессии CD31. Коэффициент эластичности составил 3,1%, т.е. снижение экспрессии CD31 на 1% приводит к нарастанию интенсивности некроза на 3,1% ( $p = 0,033$ ).

Указанные изменения могут свидетельствовать о развитии эндотелиальной дисфункции в сосудистом русле трансплантата, которая возрастает с увеличением тяжести

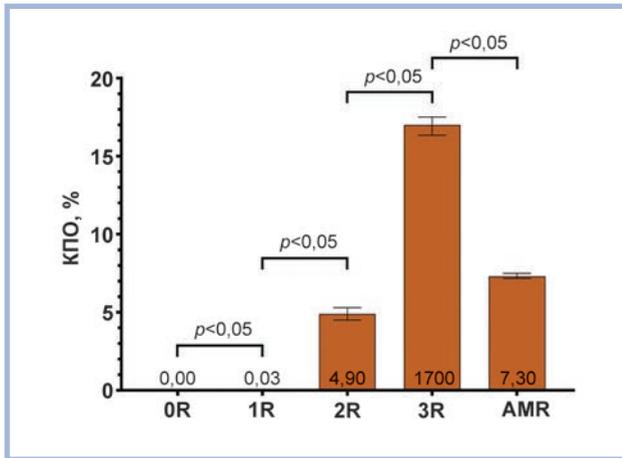


Рис. 3. Выраженность некроза в миокарде сердечного трансплантата.

Fig. 3. The severity of necrosis in the myocardium of the heart transplant.

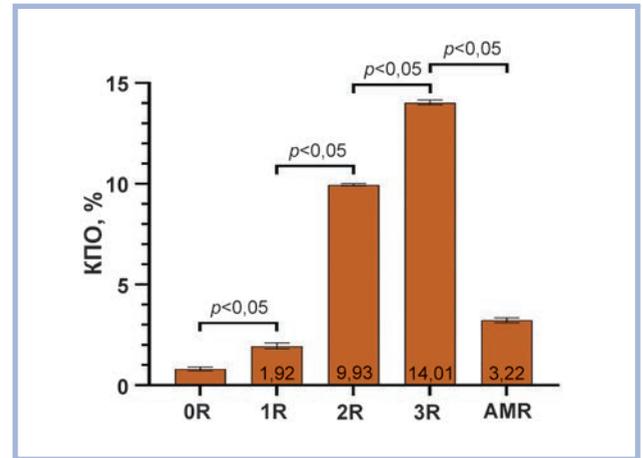


Рис. 4. Выраженность кровоизлияний в миокарде сердечного трансплантата.

Fig. 4. The severity of hemorrhages in the myocardium of the heart transplant.

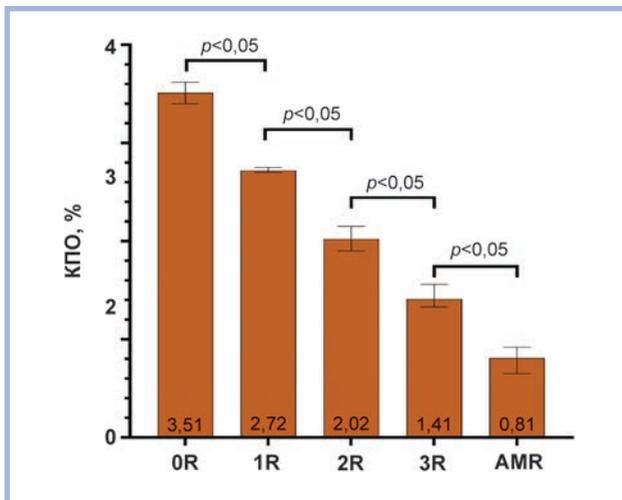


Рис. 5. Экспрессия CD31 в миокарде сердечного трансплантата.

Fig. 5. CD31 expression in the myocardium of the heart transplant.

отторжения и сопровождается кровоизлияниями. Их интенсивность увеличивается при тяжелом клеточном отторжении по сравнению с легкой степенью в 7,3 раза, а при гуморальном отторжении — в 1,7 раза. Между экспрессией PECAM-1 и выраженностью кровоизлияний существует слабая обратная связь ( $r = -0,4979$ ), которая статистически незначима ( $p = 0,143$ ).

## Обсуждение

Локализация CD31-позитивных клеток зарегистрирована главным образом в стенках кровеносных сосудов миокарда. Это соответствует существующему представлению о природе PECAM-1, который является одним из главных компонентов межклеточных контактов в эндотелии [1]. Наиболее высокие показатели экспрессии

PECAM-1 обнаружены в биоптатах пациентов, у которых отсутствует сколько-нибудь выраженная реакция отторжения трансплантата. Уменьшение экспрессии CD31 отмечается уже на ранней стадии клеточного отторжения, до развития патоморфологических признаков васкулита, что, по-видимому, указывает на дисфункцию эндотелия кровеносных сосудов сердечной мышцы. Участие молекул PECAM-1 в патогенезе отторжения трансплантата можно связать с их способностью обеспечивать взаимодействие эндотелия с лейкоцитами крови и регулировать траффик этих клеток в очаг воспаления [14]. Нарастание процесса клеточного отторжения сопровождается существенным уменьшением площади CD31-позитивной зоны в сердечной мышце и увеличением выраженности в ней некротических изменений. Наименьшее значение экспрессии CD31 имеет при антителоопосредованном отторжении, что объясняется характерным для этого процесса обширным повреждением капилляров.

Активация PECAM-1 ингибирует апоптоз эндотелия, инициируемый как внутренними, так и наружными путями [15]. Повышение выживаемости эндотелиальных клеток имеет критическое значение для функционирования микроциркуляторного русла в условиях гипоксии или воспаления [16]. Развитие эндотелиальной дисфункции со снижением экспрессии CD31 под действием повреждающих факторов в процессе отторжения, по-видимому, вызывает апоптоз эндотелиальных клеток. Угнетение функции PECAM-1 способствует ишемическому повреждению органа [17]. Для пересаженного сердца это может означать развитие болезни коронарных сосудов трансплантата, которая представляет серьезную угрозу его функционированию.

Другим отражением дисфункции эндотелия и повреждения стенки кровеносных сосудов миокарда служат кровоизлияния, интенсивность которых по мере нарастания тяжести клеточного отторжения усиливается наряду со снижением экспрессии CD31. Незначительную выраженность кровоизлияний при антителоопосредованном отторжении можно объяснить хроническим характером повреждения сосудов с преобладанием периваскулярного фиброза миокарда.

## Заключение

Отсутствие реакции отторжения трансплантата пересаженного сердца характеризуется максимальным уровнем экспрессии PECAM-1. Наиболее ранний патоморфологический признак отторжения — снижение экспрессии маркера CD31, которое предшествует появлению признаков некроза кардиомиоцитов. Экспрессия CD31 продолжает снижаться с нарастанием тяжести отторжения и сопровождается прогрессирующим развитием кровоизлияний в сердечной мышце трансплантата.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — А.А. Славинский, А.А. Веревкин

Сбор и обработка материала — А.А. Веревкин

Статистическая обработка данных — А.А. Славинский, А.А. Веревкин

Написание текста — А.А. Славинский, А.А. Веревкин

Редактирование — А.А. Славинский

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 19-415-230003 и администрации Краснодарского края №47-08-10-10.1.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Lertkiatmongkol P, Liao D, Mei H, Hu Y, Newman PJ. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31). *Curr Opin Hematol*. 2016;23(3):253-259. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000239>
- Andreato F, Syvannarath V, Clement M, Delbosc S, Guedj K, Fornasa G, Khallou-Laschet J, Morvan M, Even G, Procopio E, et al. Macrophage CD31 signaling in dissecting aortic aneurysm. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(1):45-57. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.04.047>
- Caligiuri G. Mechanotransduction, immunoregulation, and metabolic functions of CD31 in cardiovascular pathophysiology. *Cardiovasc Res*. 2019;115(9):1425-1434. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz132>
- Prattichizzo F, De Nigris V, Sabbatinelli J, Giuliani A, Castaño C, Párrizas M, Crespo I, Grimaldi A, Baranzini N, Spiga R, et al. CD31(+) extracellular vesicles from patients with Type 2 diabetes shuttle a miRNA signature associated with cardiovascular complications. *Diabetes*. 2021;70(1):240-254. <https://doi.org/10.2337/db20-0199>
- Pham MT, Pollock KM, Rose MD, Cary WA, Stewart HR, Zhou P, Nolte JA, Waldau B. Generation of human vascularized brain organoids. *Neuroreport*. 2018;29(7):588-593. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001014>
- Zhang Y-Y, Kong L-Q, Zhu X-D, Cai H, Wang CH, Shi WK, Cao MQ, Li XL, Li KS, Zhang SZ, et al. CD31 regulates metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via the ITGB1-FAK-Akt signaling pathway. *Cancer Lett*. 2018;429:29-40. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.05.004>
- Figueiredo CC, Pereira NB, Pereira LX, Oliveira LA, Campos PP, Andrade SP, Moro L. Double immunofluorescence labeling for CD31 and CD105 as a marker for polyether polyurethane-induced angiogenesis in mice. *Histol Histopathol*. 2019;34(3):257-264. <https://doi.org/10.14670/HH-18-038>
- Cheung KCP, Fanti S, Mauro C, Wang G, Nair AS, Fu H, Angeletti S, Spoto S, Fogolari M, Romano F, et al. Preservation of microvascular barrier function requires CD31 receptor-induced metabolic reprogramming. *Nat Commun*. 2020;11(1):3595. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17329-8>
- Caligiuri G. CD31 as a therapeutic target in atherosclerosis. *Circ Res*. 2020;126(9):1178-1189. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.315935>
- Schramm R, Menger MD, Schmits R, Harder Y, Kirsch S, Meier C, Schäfers HJ. Role of PECAM-1 in acute rejection of fully major histocompatibility complex class II-mismatched cardiac allografts in mice. *Transplantation*. 2007;84(4):555-558. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000275402.03195.c4>
- Веревкин А.А., Славинский А.А., Космачева Е.Д. Морфофункциональная характеристика отторжения трансплантированного сердца. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018;2:55-60. <https://doi.org/10.31088/2226-5988-2018-26-2-55-60>
- Verevkin AA, Slavinsky AA, Kosmacheva ED. Morphofunctional characteristic of the transplanted heart rejection. *Clinical and Experimental Morphology*. 2018;2:55-60. (In Russ.). <https://doi.org/10.31088/2226-5988-2018-26-2-55-60>
- Berry GJ, Angelini A, Burke MM, Bruneval P, Fishbein MC, Hammond E, Miller D, Neil D, Revelo MP, Rodriguez ER, et al. The ISHLT working formulation for pathologic diagnosis of antibody-mediated rejection in heart transplantation: evolution and current status (2005–2011). *J Heart Lung Transplant*. 2011;30(6):601-611. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2011.02.015>
- Славинский А.А., Веревкин А.А., Сотниченко А.С., Космачева Е.Д., Ставенчук Т.В. Иммуногистохимический профиль мононуклеарного инфильтрата в миокарде пересаженного сердца. Компьютерная морфометрия. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020;27(2):92-101. Slavinsky AA, Verevkin AA, Sotnichenko AS, Kosmacheva ED, Stavenchuk TV. Immunohistochemical profile of mononuclear infiltrate in the myocardium of transplanted heart. Computer morphometry data. *Kuban Sci Med Bull*. 2020;27(2):92-101. (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-2-92-101>
- Hu M, Zhang H, Liu Q, Hao Q. Structural basis for human PECAM-1-mediated trans-homophilic cell adhesion. *Sci Rep*. 2016;6:38655. <https://doi.org/10.1038/srep38655>
- Crouch EE, Doetsch F. FACS isolation of endothelial cells and pericytes from mouse brain microregions. *Nat Protoc*. 2018;13(4):738-751. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.158>
- Handra-Luca A. CD31 immunohistochemical expression in tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(10):98-99. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000693>
- Valentini X, Gossiaux A, Caron N, Nonclercq D, Legrand A, Toubeau G. Monoclonal antibody to CD31 (PECAM-1) inhibits tubular regeneration after ischemia reperfusion injury in the rat. *Nephron Exp Nephrol*. 2011;118(3):e60-8. <https://doi.org/10.1159/000322481>

Поступила 04.04.2022

Received 04.04.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Мультиплексная флуоресцентная визуализация опухолеассоциированных фибробластов в колоректальном раке

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

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

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

### РЕЗЮМЕ

Опухлеассоциированные фибробласты (CAF) представляют собой гетерогенную клеточную популяцию в строме опухоли, имеют важное прогностическое и клиническое значение для солидных опухолей, в том числе колоректального рака. Идентификация CAF представляет трудности в связи с отсутствием уникального диагностического маркера.

**Цель исследования.** Выявление CAF с помощью мультиплексного иммуногистохимического окрашивания и оценка их колокализации.

**Материал и методы.** Выполнено мультиплексное окрашивание с помощью набора для семицветного ручного иммуногистохимического окрашивания OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT («Akoya Biosciences», США) с пятью антителами (FAP, PDGFR $\beta$ , CD31, POD, PCK) материала 10 пациентов с аденокарциномой толстой кишки, не получавших неoadъювантную терапию. Анализ результатов окрашивания проводился с помощью системы для мультиплексной визуализации Mantra 2 Quantitative Pathology Imaging System («Akoya Biosciences», США).

**Результаты.** Маркеры CD31 и CAF (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) экспрессируются принципиально в разных клетках ( $p < 0,0001$ ) во всех зонах опухоли (апикальная, центральная, инвазивная). В парах FAP+PDGFR $\beta$  во всех зонах ( $p < 0,0001$ ) значимо выше оказалась площадь совместного окрашивания, которое свидетельствует, что данные маркеры обнаруживаются на одних и тех же стромальных клетках (предположительно CAF). В паре FAP+POD выявлена значимая ( $p = 0,011$ ) колокализация только в апикальной зоне опухоли, что, скорее всего, связано с популяцией молодых фибробластов, активно пролиферирующих в зоне изъязвления и грануляций, а не с популяцией CAF.

**Заключение.** При оценке колокализации маркеров CAF (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) и эндотелиальных клеток (CD31) в различных зонах колоректальных карцином показана колокализация маркеров FAP+PDGFR $\beta$  во всех зонах опухоли и FAP+POD в апикальной зоне.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, опухлеассоциированные фибробласты, колокализация, иммунофлуоресценция, опухолевое микроокружение, строма опухоли.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

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

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

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

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

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Олейникова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г. Мультиплексная флуоресцентная визуализация опухлеассоциированных фибробластов в колоректальном раке. *Архив патологии*. 2022;84(5):11–19.

<https://doi.org/10.17116/patol20228405111>

## Multiplex fluorescent imaging of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer

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

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Faculty of Basic Medicine, Medical Research and Educational Center, Moscow, Russia;

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

### ABSTRACT

**Background.** Cancer-associated fibroblasts (CAFs) are a heterogeneous cell population in the tumor stroma and have important prognostic and clinical significance for solid tumors, including colorectal cancer. The identification of CAF presents difficulties due to the lack of a unique diagnostic marker.

**Objective.** Detection of CAF by multiplex immunohistochemical staining and assessment of their colocalization.

**Material and methods.** For multiplex IHC staining specimens of 10 colon adenocarcinomas without neoadjuvant treatment were selected. We used «OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT» (Akoya Biosciences, USA) with five antibodies (FAP, PDGFR $\beta$ , CD31, POD, PCK) for staining and Mantra 2 Quantitative Pathology Imaging System (Akoya Biosciences, USA) for evaluation of results.

**Results.** CD31 and CAF markers (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) are expressed fundamentally in different cells ( $p < 0.0001$ ) in all areas of the tumor (apical, central, invasive margin). Pairs FAP+PDGFR $\beta$  in all zones demonstrated significantly higher ( $p < 0.0001$ ) square of tandem staining. It shows that these markers are expressed in the same stromal cells (probably CAF). In pair FAP+POD significant colocalization ( $p = 0.011$ ) was detected only in apical zone. We connect this finding rather with active proliferation of population of young fibroblasts in zones of ulceration and granulations than with CAF.

**Conclusion.** We evaluated co-localization of CAF markers (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) and endothelial cells (CD31) in different zones of colorectal carcinomas. We showed colocalization of CAF markers for pairs FAP+PDGFR $\beta$  in all tumor zones and for pair FAP+POD in apical zone.

**Keywords:** colorectal cancer, cancer-associated fibroblasts, colocalization, immunofluorescence, tumor microenvironment, tumor stroma.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

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

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

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

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

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

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Oleynikova NA, Kharlova OA, Danilova NV, Malkov PG. Multiplex fluorescent imaging of cancer-associated fibroblasts in colorectal cancer. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):11–19. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405111>

Микроокружение опухоли, или опухолевая строма, играет критическую роль в регулировании опухолевых клеток. Оно участвует в онкогенезе путем индукции эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток [1]. Опухолово-стромальное соотношение (tumor-stromal ratio) — прогностический критерий, подразделяющий все опухоли на stroma-low и stroma-high в зависимости от площади стромы в опухоли, посчитанной на окрашенных гематоксилином препаратах [2]. При колоректальном раке, а также при других солидных эпителиальных опухолях с высоким содержанием стромы отмечается плохой прогноз [3–5]. В дополнение к площади стромы важную роль в поведении карциномы может играть состав стромы. Несколько транскриптомных и иммуногистохимических исследований показали, что десмопластическая строма связана с плохим исходом у пациентов и может предсказать ответ на терапию [6, 7]. Десмопластическая реакция состоит в основном из активированных фибробластов, также называемых опухолеассоциированными фибробластами (cancer-associated fibroblasts, CAF). CAFs представляют собой гетерогенную клеточную популяцию с точки зрения происхождения и биологической функции и происходят в основном из мезенхимальных клеток, которые являются резидентными или рекрутируются опухолью [8]. Они расположены близко к эпителиальным клеткам и другим компонентам стромы, таким как иммунные клетки, кровеносные сосуды и компоненты внеклеточного матрикса. Фибробласт — это общий термин, который включает резидентные покоящиеся фибробласты, CAFs, миофибробласты и перициты. Идентификация и номенклатура фибробластов, присутствующих в опухоли, остаются сложными из-за отсутствия специфических маркеров для известных и все еще неопределенных подтипов.

Цель работы — оценка коэкспрессии потенциальных маркеров CAF и их тропности к сосудам и опухолевым поч-

кованиям. Маркерами CAF считаются белок активации фибробластов (FAP), рецепторы тромбоцитарного фактора роста (PDGFR $\beta$ ), подоπλαин (POD) [9]. Все обозначенные маркеры не являются специфичными для CAF. Так, FAP также экспрессируется воспалительными клетками, PDGFR $\beta$  определяются на перицитах [10, 11], POD — в лимфатических сосудах. Для выявления сосудов использовался CD31 (и POD), а для оценки опухолевых почкований — Pancytokeratin (PCK) (табл. 1).

## Материал и методы

В исследование включено 10 аденокарцином lowgrade толстой кишки от 10 пациентов с I–III стадией заболевания, не получавших неoadьювантную терапию. Средний возраст пациентов составил 70,8 года. В полуавтоматическом режиме с использованием автостейнера Autostainer 480S («Thermo Scientific», Англия) проводилось мультиплексное окрашивание с помощью набора для семицветного ручного иммуногистохимического окрашивания OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT («Akoya Biosciences», США) с пятью антителами (табл. 2).

Протокол окрашивания:

- 1) депарафинизация и регидратация;
- 2) демаскировка антигенов в AR9 Buffer («Akoya Biosciences», США) (20 мин);
- 3) пероксидазный блок («Leica Biosystems»);
- 4) отмывка в стандартном растворе PBS (5 мин);
- 5) нанесение и инкубация первого первичного антитела (см. табл. 2);
- 6) две отмывки в PBS (по 5 мин);
- 7) нанесение и инкубация вторичного антитела, конъюгированного с пероксидазой хрена (Opal Polymer HRP Ms + Rb, входит в комплект);

**Таблица 1. Локализация используемых маркеров**

**Table 1. Localization of used markers**

Маркер	Экспрессия маркера	Субпопуляция
CD31	Кровеносные сосуды	Эндотелиальные клетки
POD	Лимфатические сосуды, опухолевая строма	CAF, эндотелиальные клетки лимфатических сосудов
PDGFR $\beta$	Кровеносные сосуды, опухолевая строма	CAF, перициты, миофибробласты
FAP	Опухоловая строма	CAF

Таблица 2. Характеристики используемых антител

Table 2. Characteristics of used antibodies

Антитело	Цвет	Клон	Производитель	Разведение	Время инкубации, мин	Тип антитела (Ms/Rb)	Флуорохром
FAP	●	SP325	«Abcam»	1:75	20	Rb	Opal 520
PDGFRβ	●	Y92	«Abcam»	1:500	20	Rb	Opal 540
CD31	●	JC70A	«Dako»	RTU	30	Mo	Opal 650
POD	●	EPR22182	«Abcam»	1:4000	20	Rb	Opal 570
PCCK	●	AE1/AE3	«Dako»	RTU	30	Mo	Opal 620

8) две отмывки в PBS (по 5 мин);

9) нанесение и инкубация соответствующего флуорохрома Opal (10 мин);

10) две отмывки в PBS (по 5 мин);

11) повторная демаскировка (20 мин);

12) повторение этапов 4—11 (4 раза для окрашивания пятью антителами; после третьей демаскировки сменили AR9 Buffer на новый).

...

44) нанесение и инкубация DAPI;

45) нанесение спирта на стекло, высушивание;

46) заключение в среду.

Для определения последовательности нанесения антител перед мультиплексным окрашиванием проводилось моноокрашивание каждым антителом с последующей пятикратной демаскировкой и нагревом до 98,5 °C в AR9 Buffer и оценкой сохранности реакции после каждого кипячения. Адекватной последовательностью стало окрашивание в следующем порядке:

FAP→PDGFRβ→CD31→POD→PCCK.

Парафиновые блоки отбирали таким образом, чтобы в срез попали все зоны опухоли: обращенная в просвет (апикальная), инвазивная и центральная. В каждом случае осуществляли оценку при увеличении объектива в 20 раз. В работу включали по 3 поля зрения в каждой зоне с обязательной фиксацией в качестве зоны интереса инвазивного края реакции стромы вокруг опухолевых почкований (при наличии), которые хорошо идентифицировались благодаря реакции с PCCK. Общий массив анализируемых данных составил 93 зоны, которые оценивали сначала в совокупности, а затем по отдельности: апикальная/центральная/инвазивная.

Система для мультиплексной визуализации Mantra 2 Quantitative Pathology Imaging System предназначена для детекции флуорохромов с близкими спектрами возбуждения/излучения за счет флуоресцентных фильтров и монохромной высокочувствительной ПЗС-камеры с настраиваемым спектральным фильтром на жидких кристаллах. Прибор позволяет визуализировать до 9 флуорохромов без перекрытий спектров и автоматически удалять сигнал автофлуоресценции с образца, а также проводить съемку отдельных областей интереса при увеличении в 4, 10, 20 и 40 раз. С помощью программного обеспечения Inform («Акоуа») произведены анализ результатов окрашивания и оценка действия между клетками непосредственно на препарате ткани:

— автоматическая сегментация изображения по типу ткани;

— автоматический подсчет клеток;

— автоматическое фенотипирование иммунных, опухолевых и других типов клеток по совокупности коэкспрессируемых маркеров;

— просмотр результатов флуоресцентного окрашивания в виде гистологических препаратов в светлом поле;

— статистический анализ расположения клеток относительно друг друга и их распределения относительно ткани опухоли.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы PASW Statistics 22. Для множественных сравнений количественных данных в несвязанных выборках применяли непараметрический критерий Краскела—Уоллиса. Для множественных сравнений качественных данных использовали критерий  $\chi^2$ .

Для сравнения количественных данных в двух связанных совокупностях применяли непараметрический критерий Уилкоксона. Для графического представления данных использовали диаграммы-боксплоты с обозначенными на них медианой, 25-м и 75-м процентилями и полуторным межквартильным размахом, а также «выбросами», выходящими за пределы полуторного (°) и тройного (\*) межквартильных размахов, и диаграммы среднего значения с обозначенным на них двойным стандартным отклонением.

## Результаты и обсуждение

После машинного обучения программа идентифицировала области микропрепаратов, размеченные как «опухоль» и «строма», производился автоматический подсчет площади (в % к площади поля зрения) каждой зоны, а также площади метки исследуемых маркеров в этой зоне.

Для точности определения стромально-опухолевого соотношения в качестве финальной цифры площади стромы (в %) было взято среднее значение по трем полям зрения в каждой зоне. Полученные данные представлены в табл. 3. Ввиду малой выборки корреляционный анализ провести не удалось, но визуально видно, что в случаях с низким стромально-опухолевым соотношением (по инвазивному краю, учитывая пороговое значение 50%, согласно [2]) метастазы в лимфатических узлах отсутствуют. Также видна гетерогенность в стромально-опухолевым соотношении в различных зонах с преимущественным увеличением в инвазивном крае (см. табл. 3).

Статистически значимой разницы по уровню каждого из маркеров (PDGFRβ, POD, FAP, CD31) в трех зонах не выявлено (рис. 1). По графикам видно, что средние значения маркеров CAF схожи (среднее значение POD — 38,65%, FAP — 41,64%, PDGFRβ — 33,36%), а среднее значение маркера кровеносных сосудов CD31 — 5,68%.

Одна из основных задач — оценка колокализации маркеров CAF. Для этого попарно сравнивали маркеры и подсчитывали следующие показатели:

- 1) площадь, отрицательную на оба маркера ( $S_{\text{отр}}$ );
- 2) площадь, положительную на оба маркера ( $S_{A+B}$ );
- 3) площадь реакции каждого маркера в паре ( $S_A; S_B$ ).

Таблица 3. Стромально-опухолевое соотношение в выборке

Table 3. Stromal-tumor ratio in the sample

Случай	Средняя площадь стромы в зоне (% к площади поля зрения)			Стромально-опухолевое соотношение*	Наличие опухолевых почкований	Число лимфатических узлов с метастазами
	апикальной	центральной	инвазивной			
1	44,63	30,36	48,51	Низкое	Нет	0
2	54,20	84,13	54,02	Высокое	Есть	3
3	44,80	55,96	22,57	Низкое	Нет	0
4	59,38	64,43	57,83	Высокое	»	4
5	35,56	37,06	51,57	»	Есть	8
6	39,76	27,05	62,10	»	»	0
7	51,28	34,30	75,26	»	»	3
8	54,41	54,97	62,09	»	»	5
9	65,59	74,32	66,50	»	Нет	7
10	57,50	47,14	46,00	Низкое	Есть	1

Примечание. \* — значение <50% средней площади стромы в инвазивной зоне трактовалось как низкое, >50% — как высокое.

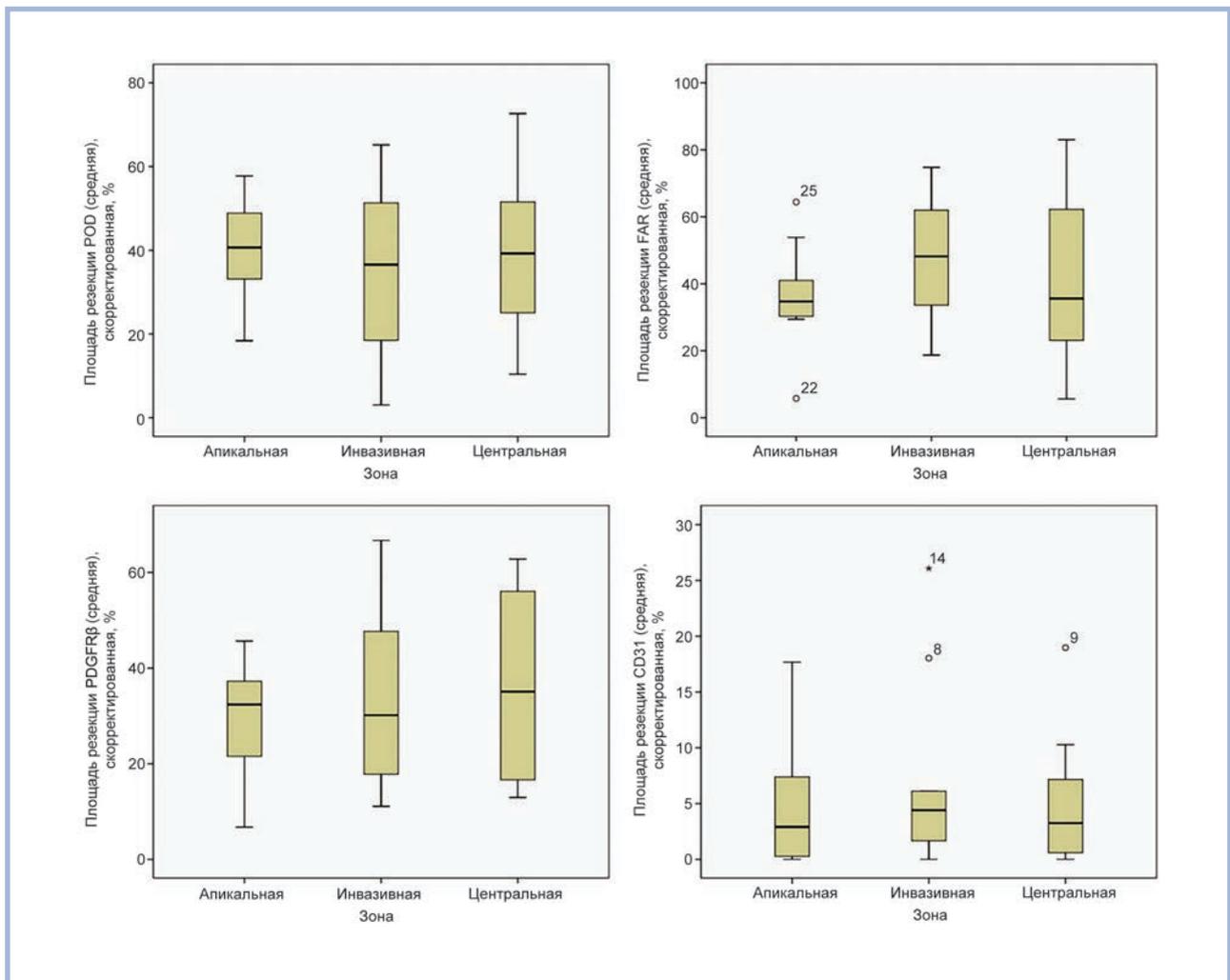


Рис. 1. Средние (скорректированные на площадь) значения маркеров в различных зонах опухоли.

Fig. 1. Mean (area-adjusted) values of markers in different areas of the tumor.

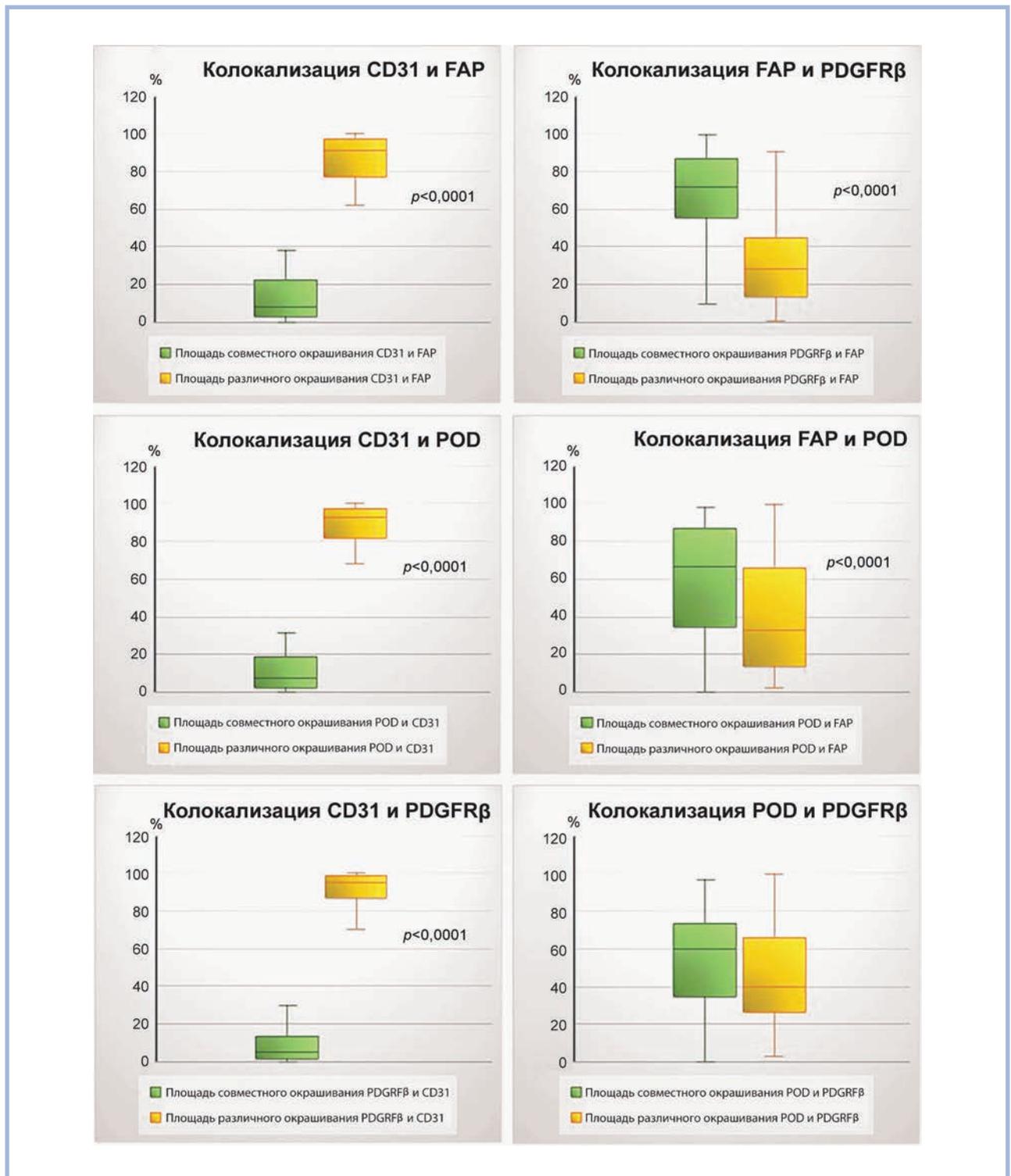


Рис. 2. Колокализация маркеров.

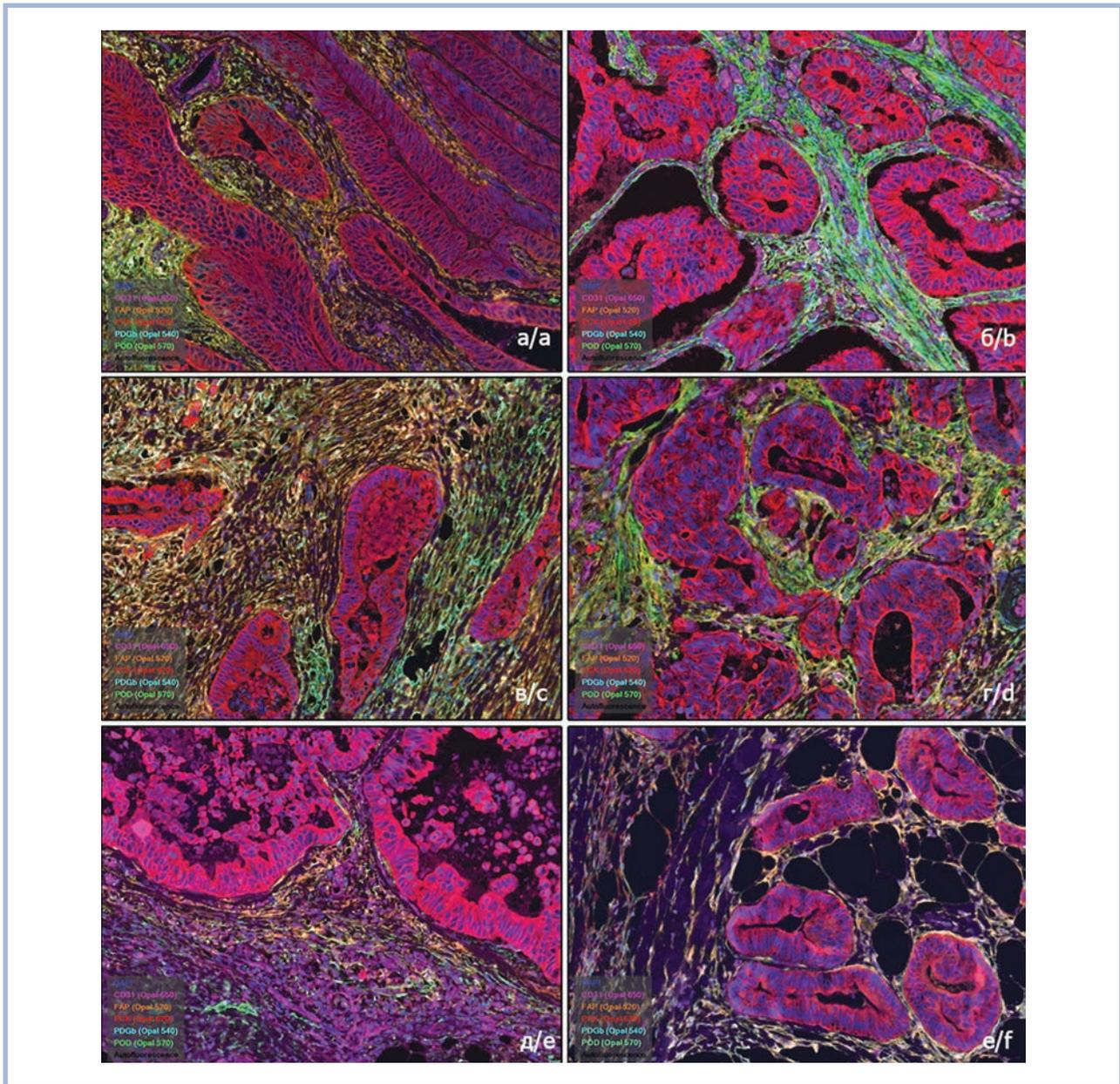
Fig. 2. Marker colocalization.

Всего было исследовано 6 пар маркеров, экспрессируемых в строме: CD31+FAP, CD31+PDGFR $\beta$ , CD31+POD, FAP+PDGFR $\beta$ , FAP+POD, PDGFR $\beta$ +POD.

Маркер CD31 был использован для детекции сосудов и оценки реакции вокруг них, а не с целью поиска потенциальной колокализации. Остальные маркеры (FAP, PDGFR $\beta$ ,

POD), предположительно являющиеся маркерами CAF, оценивали вместе для выявления их совместного окрашивания. Площадь ( $S$ ) совместного окрашивания определяли только в окрашенной части и расценивали по формуле:

$$S \text{ совместного окрашивания A и B} = \frac{S_{A+B}}{S_{A+B} + S_A + S_B}.$$



**Рис. 3.** Реакция исследуемых маркеров в различных зонах опухоли.

Зоны опухоли: а, б — апикальная; в, г — центральная; д, е — инвазивная. Мультиплексное флюоресцентное окрашивание OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT («Akoya Biosciences», США) с пятью антителами, об.  $\times 20$ .

**Fig. 3.** Reaction of the studied markers in different areas of the tumor.

Tumor zones: a, b — apical; c, d — central; e, f — invasive. Multiplex fluorescent staining with OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT with five antibodies, lens  $\times 20$ .

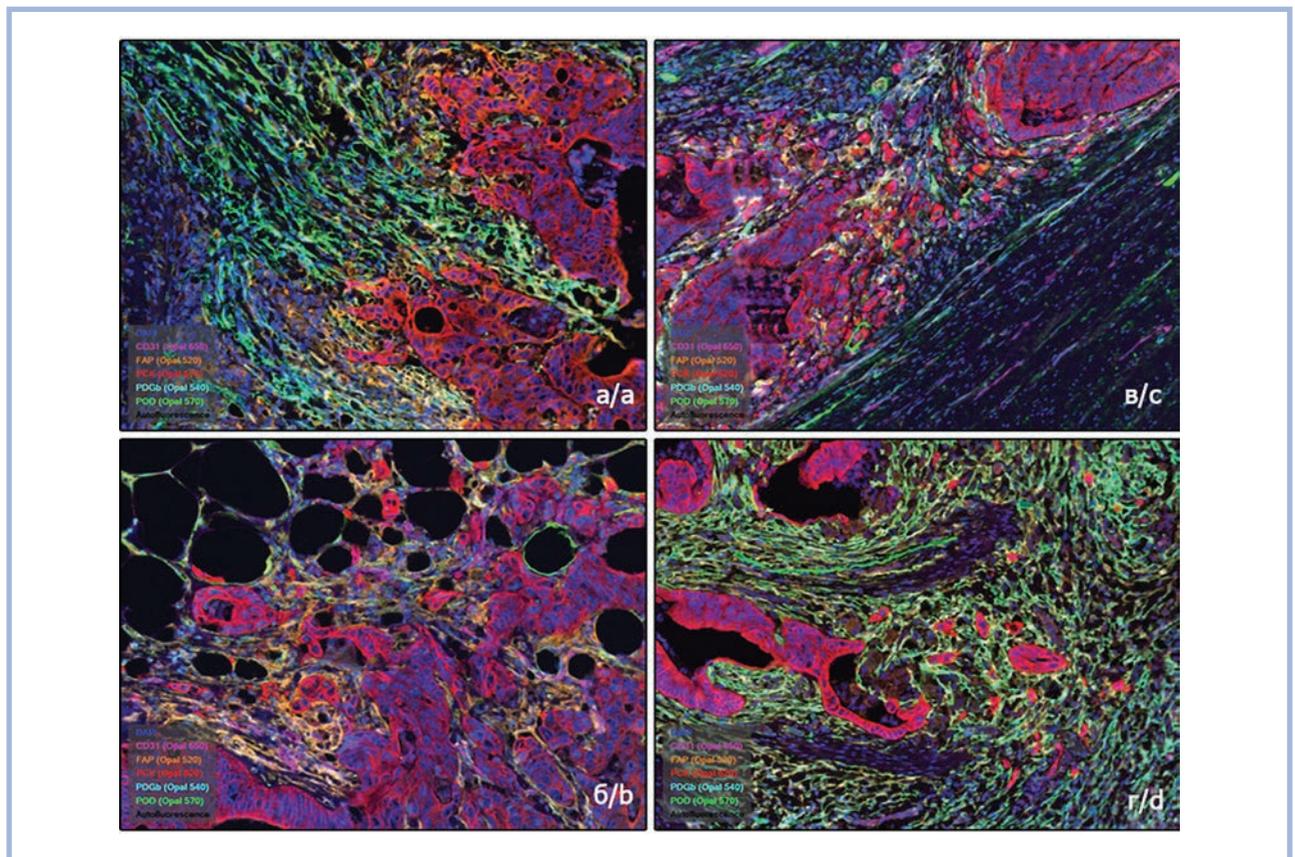
Данное допущение стало возможно благодаря тому, что программное средство Inform обладает высокой чувствительностью и способно в качестве зоны интереса выделять и анализировать одну клетку.

Площадь ( $S$ ) различного окрашивания вычисляли по формуле:

$$S \text{ различного окрашивания A и B} = \frac{S_{A+B}}{S_{A+B} + S_A + S_B}$$

Данные с площадями совместного и различного окрашивания, позволяющие судить о колокализации маркеров, представлены в виде boxplot на рис. 2.

Полученные данные свидетельствуют, что маркеры CD31 и CAF экспрессируются принципиально в разных локализациях ( $p < 0,0001$ ) для всех пар (CD31+FAP, CD31+PDGFR $\beta$ , CD31+POD). На графиках (см. рис. 2) видно, что средние значения и медиана совместного окрашивания CD31 и маркеров CAF значимо меньше, чем эти же показатели при их различном окрашивании. Дополнительно колокализация была оценена в различных зонах в отдельности (апикальная, центральная, инвазивная). Разнонаправленное действие CD31 и маркеров CAF подтвердилось в каждой зоне в отдельности ( $p < 0,001$ ), что согласуется с данными Т. Sandberg и соавт. [12].



**Рис. 4.** Реакция исследуемых маркеров вокруг опухолевых почкований в инвазивном крае.

Мультиплексное флуоресцентное окрашивание OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT с пятью антителами, об.  $\times 20$ .

**Fig. 4.** The reaction of the studied markers around tumor budding in the invasive region.

Multiplex fluorescent staining with OPAL 7-COLOR MANUAL IHC KIT with five antibodies, lens  $\times 20$ .

Противоположные данные получены по парам FAP+PDGFR $\beta$  и FAP+POD ( $p < 0,0001$ ), где значимо выше оказалась площадь их совместного окрашивания (см. рис. 2). Это говорит о том, что данные маркеры обнаруживаются на одних и тех же стромальных клетках (предположительно CAF), а учитывая гетерогенность CAF, эти маркеры выявляют одни и те же популяции.

В паре FAP+PDGFR $\beta$  в различных зонах была выявлена различная значимая статистическая взаимосвязь по локализации маркеров: в апикальной зоне опухоли менее значимая ( $p = 0,031$ ), а центральной и инвазивной — более значимая ( $p = 0,008$  и  $p = 0,001$ ) (рис. 3).

В паре FAP+POD не во всех зонах в отдельности удалось выявить статистически значимую взаимосвязь по локализации маркеров: в апикальной зоне опухоли значимую ( $p = 0,011$ ), а центральной и инвазивной — незначимую ( $p = 0,072$  и  $p = 0,067$ ). Эти данные свидетельствуют, что маркеры FAP и POD окрашивают одни и те же элементы лишь в апикальной зоне, что, скорее всего, связано с популяцией молодых фибробластов, активно пролиферирующих в зоне изъязвления и грануляций, но не с популяцией CAF.

В паре POD и PDGFR $\beta$  различия оказались статистически незначимы ни по совокупности всех зон, ни по каждой зоне в отдельности, в связи с чем по имеющейся выборке не удалось установить характер распределения и взаимодействие этих маркеров.

Вручную 3 патологоанатомами оценивалось распределение маркеров CAF (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) вокруг опухолевых почкований (в 6 из 10 случаев, где они имелись) и вблизи окрашенных CD31 сосудов (рис. 4).

Во всех 6 случаях с опухолевыми почкованиями наблюдается выраженная видимая реакция FAP вблизи них (см. рис. 4). Также складывается впечатление, что в случаях, где есть опухолевые почкования, наблюдается более высокий уровень POD в инвазивном крае (среднее значение в случаях без почкований — 40,3%; в случаях с почкованиями — 78,2%; табл. 4). Ранее с помощью дуплексной иммуногистохимической метки было показано отсутствие необходимости оценивать POD непосредственно вокруг опухолевых почкований, поскольку реакция вокруг них соответствовала уровню реакции POD в инвазивном крае [13]. Эти данные отличаются от мировых: авторы отмечают корреляцию между снижением безрецидивной выживаемости и отсутствием экспрессии POD в CAF центральной зоны [14] и не выявили корреляцию между выживаемостью и уровнем POD в инвазивном крае.

В случаях с опухолевыми почкованиями и без них средний уровень FAP не отличался (80,9 и 87,17%), однако при наличии опухолевых почкований менялось их распределение в препарате, в таких случаях большая часть FAP-положительных клеток концентрировалась вокруг опухолевых почкований. Средняя площадь PDGFR $\beta$  была сопоставима (см. табл. 4).

Таблица 4. Средние уровни маркеров в инвазивном крае и наличие опухолевых почеч

Table 4. Mean levels of markers in the invasive zone and the presence of tumor buds

Случай	Наличие опухолевых почечкований	Средняя площадь реакции (% к площади поля зрения)					
		POD в инвазивном крае	FAP в инвазивном крае	PDGFR $\beta$ в инвазивном крае			
1	Нет	65,7	36,61	30,97			
3	»	62,66	95,44	67,53			
4	»	5,93	92,96	85,8			
9	»	27,04	98,79	37,3			
2	Есть	70,21	86,34	87,3			
5	»	92,86	94,65	64,89			
6	»	91,91	99,79	75,89			
7	»	86,07	99,4	89,22			
8	»	79,53	57,21	18,26			
10	»	48,65	85,64	59,89			
Среднее значение		40,3	78,2	80,9	87,17	55,4	65,9

Вокруг сосудов, окрашенных CD31, чаще всего обнаруживалась реакция POD (см. рис. 3, а, б) и FAP (см. рис. 3, а), однако из-за гетерогенности распределения маркеров и малой выборки статистически значимых выводов получить не удалось.

## Заключение

При оценке колокализации маркеров CAF (FAP, PDGFR $\beta$ , POD) между собой и с маркером сосудов CD31 в различных зонах колоректальных карцином выявлена статистически значимая колокализация в паре FAP+PDGFR $\beta$ , свидетельствующая об экспрессии этих маркеров в одних и тех же стромальных клетках, предположительно CAF. Установлена статистически значимая колокализация в паре FAP+POD в апикальной зоне опухоли, свидетельствующая об экспрессии этих маркеров в одних и тех же стромальных клетках, предположительно незрелых фибробластах грануляционной ткани. Показано полное отсутствие колокализации между CD31 и маркерами CAF. Показана высокая экспрессия FAP в инвазивном крае опухоли непосредственно вблизи опухолевых почечкований, что может иметь дополнительное клиническое значение.

Технология мультиплексной флюоресцентной ИГХ может представлять интерес не только для исследовательских проектов. Представляется перспективной разработка многокомпонентных диагностических наборов, например для диагностики рака предстательной железы (AMACR+CK-N+r63), рака молочной железы (HER2+ER+PR+Ki-67) и других стандартных диагностических панелей.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Н.А. Олейникова  
Сбор и обработка материала — Н.В. Данилова, Н.А. Олейникова, П.Г. Мальков, О.А. Харлова  
Статистическая обработка данных — О.А. Харлова  
Написание текста — Н.А. Олейникова  
Редактирование — П.Г. Мальков, Н.В. Данилова

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ, грант «Перспектива» №19-315-60006).*

*Коллектив авторов выражает признательность ООО «БиоЛайн» (Санкт-Петербург, Россия) за содействие в материально-техническом обеспечении и Д.В. Дьяковой (ООО «БиоЛайн») за консультативную и методическую помощь.*

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Vermeulen L, De Sousa E, Melo F, van der Heijden M, Cameron K, de Jong JH, Borovski T, Tuynman JB, Todaro M, Merz C, Rodermond H, et al. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol.* 2010;12(5):468-476. <https://doi.org/10.1038/ncb2048>
- Mesker WE, Junggeburst JMC, Szuhai K, de Heer P, Morreau H, Tanke HJ, Tollenaar RAEM. The carcinoma-stroma ratio of colon carcinoma is an independent factor for survival compared to lymph node status and tumor stage. *Cell Oncol.* 2007;29(5):387-398. <https://doi.org/10.1155/2007/175276>
- Huijbers A, Tollenaar RAEM, van Pelt GW, Zeestraten EC, Dutton S, McConkey CC, Domingo E, Smit VT, Midgley R, Warren BF, et al. The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients: validation in the VICTOR trial. *Ann Oncol.* 2013;24(1):179-185. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds246>
- van Pelt GW, Sandberg TP, Morreau H, Gelderblom H, van Krieken JPJM, Tollenaar RAEM, Mesker WE. The tumour-stroma ratio in colon cancer: the biological role and its prognostic impact. *Histopathology.* 2018;73(2):197-206. <https://doi.org/10.1111/his.13489>
- Wu J, Liang C, Chen M, Su W. Association between tumor-stroma ratio and prognosis in solid tumor patients: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2016;7(42):68954-68965. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12135>
- Isella C, Terrasi A, Bellomo SE, Petti C, Galatola G, Muratore A, Mellano A, Senetta R, Cassenti A, Sonetto C, et al. Stromal contribution to the colorectal cancer transcriptome. *Nat Genet.* 2015;47(4):312-319. <https://doi.org/10.1038/ng.3224>
- Ueno H, Kanemitsu Y, Sekine S, Ishiguro M, Ito E, Hashiguchi Y, Kondo F, Shimazaki H, Mochizuki S, Kajiwara Y, et al. Desmo-

- plastic pattern at the tumor front defines poor-prognosis subtypes of colorectal cancer. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1506-1512. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000946>
8. Öhlund D, Elyada E, Tuveson D. Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *J Exp Med*. 2014;211(8):1503-1523. <https://doi.org/10.1084/jem.20140692>
  9. Darby IA, Laverdet B, Bonte F, Desmouliere A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014;7:301-311. <https://doi.org/10.2147/CCID.S50046>
  10. Cortez E, Roswall P, Pietras K. Functional subsets of mesenchymal cell types in the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol*. 2014;25:3-9. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.12.010>
  11. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):582-598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>
  12. Sandberg TP, Stuart MPM, Oosting J, Tollenaar RAEM, Sier CFM, Mesker WE. Increased expression of cancer-associated fibroblast markers at the invasive front and its association with tumor-stroma ratio in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1):284. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5462-2>
  13. Oleynikova NA, Mikhailov IA, Malkov PG, Danilova NV, Kharlova OA. Podoplanin's expression in cancer-associated fibroblasts close to tumor budding of invasive edge. *Ark Patol*. 2021;83(4):22-28. <https://doi.org/10.17116/patol20218304122>
  14. Choi SY, Sung R, Lee SJ, Lee TG, Kim N, Yoon SM, Lee EJ, Chae HB, Youn SJ, Park SM. Podoplanin, alpha-smooth muscle actin or S100A4 expressing cancer-associated fibroblasts are associated with different prognosis in colorectal cancers. *J Korean Med Sci*. 2013;28(9):1293-1301. <https://doi.org/10.3346/jkms.2013.28.9.1293>

Поступила 23.05.2022

Received 23.05.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Мультифакторная оценка прогностических особенностей адренокортикального рака

© Э.Э. ПОРУБАЕВА<sup>1</sup>, Н.В. ПАЧУАШВИЛИ<sup>1</sup>, Л.С. УРУСОВА<sup>2</sup>

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

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

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Определить предикторы агрессивного течения адренокортикального рака (АКР). АКР — редкое злокачественное новообразование коры надпочечников, прогноз которого вариабелен. В настоящее время прогнозирование течения заболевания и клинического исхода у пациентов представляет значительные трудности, так как многие вопросы лечения АКР не изучены или требуют уточнения. В частности, не полностью определено прогностическое значение маркеров, которые применяются в клинической практике.

**Материал и методы.** Выполнены гистологическое и иммуногистохимическое исследования операционного материала новообразований надпочечников. В исследование были включены 73 пациента с гистологически подтвержденным диагнозом АКР: 51 (69,9%) женщина и 22 (30,1%) мужчины в возрасте от 17 до 82 лет. Для анализа выживаемости использовалась регрессионная модель Кокса. Статистически значимые факторы ( $p < 0,05$ ) в соответствии с результатами независимого регрессионного анализа были включены в анализ методом Каплана—Мейера с последующим попарным сравнением с помощью log-rank-теста.

**Результаты.** С повышенным риском рецидива ассоциируются наличие патологических митозов, избыточная секреция альдостерона, смерти — IV стадия по классификации Европейской рабочей группы по изучению опухолей надпочечников (ENSAT), рецидива и смерти — значение митотической активности  $>20$ , индекс Ki-67  $>12$ , классический вариант. Независимыми предикторами безрецидивной выживаемости являлись митотическая активность и гормональная активность, общей выживаемости — митотическая активность и стадия по классификации ENSAT.

**Заключение.** В настоящей работе выявлены потенциальные предикторы течения АКР, которые доступны для применения в рутинной практике. На основании совокупности клинических, морфологических, иммуногистохимических данных, используемых при диагностике АКР, может быть получено представление о выживаемости пациента.

**Ключевые слова:** адренокортикальный рак, выживаемость, предикторы выживаемости, прогностические маркеры.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Порубаева Э.Э. — <https://orcid.org/0000-0002-2611-9320>

Пачуашвили Н.В. — <https://orcid.org/0000-0002-8136-0117>

Урсова Л.С. — <https://orcid.org/0000-0001-6891-0009>

**Автор, ответственный за переписку:** Урсова Л.С. — e-mail: [liselivanova89@yandex.ru](mailto:liselivanova89@yandex.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Порубаева Э.Э., Пачуашвили Н.В., Урсова Л.С. Мультифакторная оценка прогностических особенностей адренокортикального рака. *Архив патологии.* 2022;84(5):20–27. <https://doi.org/10.17116/patol20228405120>

## Multifactorial assessment of prognostic features of adrenocortical cancer

© E.E. PORUBAYEVA<sup>1</sup>, N.V. PACHUASHVILI<sup>1</sup>, L.S. URUSOVA<sup>2</sup>

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

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

### ABSTRACT

**Objective.** To determine the predictors of the aggressive course of adrenocortical cancer (ACC). ACC is a rare malignant neoplasm of the adrenal cortex with a variable prognosis. At present, predicting the course of the disease and clinical outcome in patients presents significant difficulties, since many aspects of the treatment of ACC have not been studied or require clarification. In particular, the prognostic value of markers that are used in clinical practice has not been fully determined.

**Material and methods.** Histological and immunohistochemical studies of the surgical material of adrenal neoplasms were performed. The study included 73 patients with a histologically confirmed diagnosis of ACC: 51 (69.9%) women and 22 (30.1%) men aged 17 to 82 years. Cox regression model was used for survival analysis. Statistically significant factors ( $p < 0.05$ ) according to the results of independent regression analysis were included in the Kaplan-Meier analysis followed by pairwise comparison using the log-rank test.

**Results.** An increased risk of recurrence is associated with the presence of pathological mitoses and excessive secretion of aldosterone, death — with stage IV according to the classification of the European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENSAT), relapse and death — the value of mitotic activity more than 20, the Ki-67 index more than 12, the classic variant. Mitotic activity

and hormonal activity were independent predictors of recurrence-free survival, mitotic activity and ENSAT stage were independent predictors of overall survival.

**Conclusions.** In the present work, potential predictors of the course of ACC are identified, which are available for use in routine practice. Based on the totality of clinical, morphological, immunohistochemical data used in the diagnosis of ACC, a conception of the patient's survival can be obtained.

**Keywords:** adrenocortical carcinoma, survival, predictors of survival, prognostic markers.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Porubayeva E.E. — <https://orcid.org/0000-0002-2611-9320>

Pachuashvili N.V. — <https://orcid.org/0000-0002-8136-0117>

Urusova L.S. — <https://orcid.org/0000-0001-6891-0009>

**Corresponding author:** Urusova L.S. — e-mail: [liselivanova89@yandex.ru](mailto:liselivanova89@yandex.ru)

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Porubayeva EE, Pachuashvili NV, Urusova LS. Multifactorial assessment of prognostic features of adrenocortical cancer. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):20–27. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405120>

Адренокортикальный рак (АКР) — злокачественное новообразование коры надпочечников, которое относится к орфанным заболеваниям с распространенностью 1 случай на 1 000 000 населения в год [1]. В большинстве случаев 5-летняя выживаемость составляет ниже 40% [2]. Вместе с тем известно много случаев благоприятного течения этого крайне агрессивного заболевания с поздним метастазированием и более длительной продолжительностью жизни. Появляется все больше доказательств того, что вариабельность прогноза при данном заболевании обусловлена его выраженной морфологической, пролиферативной и молекулярной гетерогенностью. Так, только в 2017 г. были выделены 4 морфологических подтипа: классический, онкоцитарный, миксоидный и саркоматоидный [3], которые отличаются клиническим течением и исходом. Таким образом, на основании результатов исследований последнего десятилетия АКР рассматривается как гетерогенная группа заболеваний с различными демографическими характеристиками, клинической манифестацией, патоморфологическими и геномными особенностями, биологическим поведением и прогнозом для пациента. В связи с этим важнейшей задачей при диагностике АКР является не только дифференциальная диагностика между доброкачественным и злокачественным новообразованием коры надпочечников, но и прогностическая стратификация. Предсказание течения и исхода крайне необходимо для выбора тактики ведения пациентов с АКР, но в настоящее время затруднено в клинической практике в связи с тем, что на многие вопросы нет окончательного ответа и единого мнения. В частности, появляются данные о различии выживаемости в зависимости от морфологических вариантов, при этом их прогностическое значение также не полностью изучено. Ряд новых иммуногистохимических и молекулярных маркеров, обладающих прогностическим потенциалом, находится на стадии экспериментальных исследований или не валидирован на больших выборках [4], вместе с тем нет систематизированных данных относительно маркеров, используемых в рутинной клинической практике.

Цель исследования — определить клинико-патологические параметры, ассоциированные с общей и безрецидивной выживаемостью (ОВ и БРВ соответственно) в группе взрослых пациентов с АКР.

## Материал и методы

### Дизайн исследования и изучаемая популяция

Выполнены гистологическое и иммуногистохимическое исследования операционного материала пациентов с новообразованиями надпочечников, получивших лечение в НМИЦ эндокринологии Минздрава России, а также консультативного материала из других лечебных учреждений. Часть оперативных вмешательств была произведена в НМИЦ эндокринологии Минздрава России, их выполняли следующие хирурги: И.В. Ким, Д.Г. Бельцевич, В.Э. Ванушко, Н.С. Кузнецов, С.Н. Кузнецов. Создание референс-центра патоморфологических, иммуногистохимических и лучевых методов исследования на базе НМИЦ эндокринологии Минздрава России в 2019 г. позволило создать регистр пациентов с этим крайне редким заболеванием и собрать уникальную коллекцию клинических и патоморфологических данных пациентов не только Москвы, но и других регионов России.

В исследование были включены 73 пациента с гистологически подтвержденным диагнозом АКР: 51 (69,9%) женщина и 22 (30,1%) мужчины в возрасте от 17 до 82 лет (медиана 43 (31,5; 57), 52 (37; 58) и 58 (45,5; 64) лет для классического, онкоцитарного и миксоидного морфологических вариантов АКР соответственно), которым была произведена адреналэктомиа в 2005—2020 гг. Пациенты с диагнозами «опухоль с неопределенным злокачественным потенциалом» и «онкоцитарная опухоль с неопределенным злокачественным потенциалом», а также пациенты детского возраста в исследование не включались. Проведен анализ клинических данных, включающих результаты гормонального и инструментального обследования, на основании которого определены статус заболевания, БРВ и ОВ.

### Морфологическое исследование

Из гистологического материала АКР, полученного в ходе хирургического лечения пациентов непосредственно в НМИЦ эндокринологии Минздрава России, а также из готовых гистологических блоков по стандартной методике, были получены препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. При гистологическом исследовании опухоли верифицировали в соответствии с Международной гистологической классификацией опухолей надпочечника (ВОЗ, 2017). В опухолях оценивали паттерн роста, клеточ-

**Таблица 1.** Стадирование АКР по классификации Европейской рабочей группы по изучению опухолей надпочечников (ENSAT)

**Table 1.** Staging of ACC according to the classification of European Network for the Study of Adrenal Tumors (ENSAT)

Стадия ENSAT	Определение
I	T1, N0, M0
II	T2, N0, M0
III	T1–T2, N1, M0 T3–T4, N0–N1, M0
IV	T1–T4, N0–N1, M1

*Примечание.* Стадия I — опухоль диаметром до 5 см в пределах надпочечника; стадия II — опухоль диаметром >5 см в пределах надпочечника; стадия III — вовлечение прилежащих тканей, наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах или вовлечение регионарных вен; стадия IV — наличие отдаленных метастазов.

ный и ядерный полиморфизм, количество митозов в 10 полях зрения при увеличении микроскопа в 400 раз, наличие некрозов. Тщательно исследовали капсульную, сосудистую опухолевую инвазию, поражение периадренальной жировой клетчатки. Для определения злокачественного потенциала опухоли использовали шкалу Weiss, а в случае онкоцитарных новообразований надпочечника, характеризующихся зернистой и ярко эозинофильной цитоплазмой клеток, высоким ядерным полиморфизмом и диффузным характером роста, применяли модифицированную шкалу Lin–Weiss–Bisceglia. На основании результатов гистологического исследования осуществляли стадирование по системе ENSAT (табл. 1).

#### Иммуногистохимические методы

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование осуществлялось на полностью автоматизированном иммуногистостейнере Leica Bond III по стандартным протоколам, рекомендованным фирмой-производителем, для этого были использованы моноклональные антитела к Ki-67, фосфогиостону H3 (PHN3). Все гистологические препараты отсканированы при помощи системы Aperio производства «Leica Biosystems» для обеспечения объективного подсчета и анализа полученных результатов. Подсчет пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki-67) осуществлялся визуальным методом в 10 полях зрения при увеличении 400 и определялся как процент окрашенных клеточных ядер в участках опухоли с наибольшей активностью (горячие точки). Подсчет фигур митоза проводился также визуальным методом в 10 полях зрения при увеличении 400, наличии позитивного окрашивания и характерных морфологических признаков.

#### Статистический анализ

Проанализирована связь выживаемости со следующими факторами: морфологическим вариантом, размером образования, гормональной активностью, стадией по классификации ENSAT, индексом Ki-67, митотической активностью, параметрами шкалы Weiss. Для анализа выживаемости использовалась регрессионная модель Кокса. Выполнены независимый и мультивариантный регрессионный анализ, который проводился методом отношения правдоподобия. Статистически значимые факторы в соответствии с результатами независимого регрессионного анализа были включены в анализ методом Каплана–Мейера

с последующим попарным сравнением методом log-rank-теста. Различия признаны статистически достоверными при  $p < 0,05$ . Разделение на подгруппы при апостериорном сравнительном анализе исчисляемых переменных проводилось по принципу равномерного распределения числа пациентов по подгруппам. Для непосредственных статистических расчетов использовалось программное обеспечение IBM SPSS Statistics версия 26.0.

## Результаты

### Клинические и морфологические характеристики пациентов с АКР

Характеристики пациентов с АКР, полученные в результате сбора и анализа клинико-anamnestических, лабораторных и инструментальных данных, гистологического и иммуногистохимического исследований операционного и консультативного материала, представлены в табл. 2.

Классический вариант был диагностирован у 49 (67,1%) пациентов, онкоцитарный — у 15 (20,5%), миксоидный — у 9 (12,3%); саркоматоидный вариант в данном исследовании выявлен не был. Характеристика морфологических вариантов АКР в зависимости от параметров шкалы Weiss представлена на рис. 1.

При независимом регрессионном анализе факторами, статистически достоверно влияющими на БРВ, были морфологический вариант, индекс Ki-67, митотическая активность, наличие атипических митозов и гормональная активность (рис. 2).

Классический вариант ассоциировался с увеличением шанса рецидива (ОШ, 3,2;  $p=0,02$ ) по сравнению с онкоцитарным вариантом. Миксоидный вариант также увеличивал шанс рецидива, но не достигал уровня статистической значимости (ОШ, 2,7;  $p=0,12$ ). Пятилетняя БРВ составила 29,9, 33,3, 66,8% для классического, миксоидного и онкоцитарного вариантов соответственно. Каждое увеличение индекса Ki-67 на 1% соответствовало повышению шанса рецидива на 3,2% (ОШ, 1,032;  $p=0,005$ ), а увеличение значения митотической активности на 1 — в 1,060 раза ( $p < 0,001$ ). Обнаружена корреляция одного из параметров шкалы Weiss (наличие патологических митозов) с худшей БРВ (ОШ, 4,156;  $p=0,05$ ), остальные параметры не оказывали статистически достоверного влияния на выживаемость. Избыточная секреция альдостерона повышала шанс рецидива (ОШ, 27,4;  $p=0,007$ ). Пятилетняя БРВ составила 62,2, 40,3, 32,8, 0% для I, II, III и IV стадий соответственно. После включения факторов в модель множественной регрессии статистическую значимость сохраняли гормональная и митотическая активность.

В соответствии с результатами сравнительного анализа у подгрупп со значениями митотической активности до 10 и от 10 до 20 наблюдалась лучшая медиана БРВ, чем у подгруппы, где активность была >20 (65, 32 и 6 мес соответственно;  $p < 0,001$ ). БРВ была статистически достоверно благоприятнее у подгруппы с индексом Ki-67 <12, чем у подгрупп со значениями этого параметра 12–25 ( $p=0,015$ ) и >25 ( $p=0,013$ ; 89, 11 и 6 мес соответственно). Онкоцитарный вариант ассоциировался с лучшей БРВ по сравнению с классическим ( $p=0,012$ ; медиана БРВ не достигала и 8 мес), а наличие патологических митозов — с худшей БРВ ( $p=0,031$ ; не достигалась в случае отсутствия, составляла 23 мес при их наличии). Избыточная секреция альдостерона согласовывалась с худшей БРВ по сравнению с отсутствием гормональной активности или секре-

Таблица 2. Клинические и морфологические характеристики пациентов с АКР

Table 2. Clinical and morphological characteristics of patients with ACC

Клиническая характеристика	Показатель
Возраст (медиана (мин—макс)), годы	50 (17—82)
Размер образования (медиана (мин—макс)), см	8,85 (3,5—25)
Стадия, абс. (%):	
I	9 (12,3)
II	32 (43,8)
III	26 (35,6)
IV	6 (8,2)
Функциональная активность, абс. (%):	
гиперкортицизм	21 (28,8)
гиперандрогения	1 (1,4)
гиперальдостеронизм	1 (1,4)
смешанная	3 (4,1)
Период наблюдения (медиана (мин—макс)), мес	34 (4—205)
Гистопатологическая характеристика	
Баллы по шкале Weiss (медиана (мин—макс))	6 (4—9)
Параметры шкалы Weiss, абс. (%):	
инвазия в вены	13 (17,8)
инвазия в синусоиды	30 (41,1)
инвазия в капсулу	43 (58,9)
патологические митозы	63 (86,3)
участки некроза	58 (79,5)
высокий ядерный индекс	43 (58,9)
<25% клеток со светлой цитоплазмой	67 (91,8)
диффузный рост	56 (76,7)
>5 митозов на 50 полей зрения при большом увеличении	3 (4,1)
Иммуногистохимические характеристики	
Индекс Ki-67% (медиана (мин—макс))	17 (0—60)
РНН3 (медиана (мин—макс))	14 (1—37)

цией других гормонов ( $p=0,002$ ). Медианы выживаемости составили 1, 23, 38, 65, 32 для гиперальдостеронизма, гиперандрогении, гиперкортицизма, смешанной гормональной активности и ее отсутствия соответственно.

#### Общая выживаемость

При независимом регрессионном анализе переменными, ассоциирующимися с ОБ, являлись стадия по классификации ENSAT, морфологический вариант, индекс Ki-67 и митотическая активность (рис. 3).

Для II и III стадий по классификации ENSAT выявлено снижение риска смерти на 87,2% (ОШ, 0,128;  $p=0,001$ ) и 74,7% (ОШ, 0,253;  $p=0,018$ ) по сравнению со стадией IV. Для стадии I также можно утверждать о снижении шанса смерти, но значение коэффициента  $expV$  не может быть корректно рассчитано ввиду отсутствия событий в подгруппе ENSAT I. Пятилетняя ОБ составила 100, 80,4, 63,6, 0% для I, II, III и IV стадий соответственно. Как классический, так и миксоидный варианты ассоциировались с более высоким риском смерти ( $p<0,001$ ) по сравнению с онкоцитарным вариантом. Значение  $expV$  не может быть корректно рассчитано вследствие отсутствия событий в подгруппе онкоцитарного АКР. Пятилетняя ОБ — 55,9, 75,0, 100% для классического, миксоидного и онкоцитарного вариантов соответственно. Каждое увеличение индекса Ki-67 на 1% согласовывалось с повышением риска смерти

на 5,8% (ОШ, 1,058;  $p<0,001$ ), а каждое увеличение значения митотической активности на 1 — в 1,076 раза ( $p<0,001$ ). По результатам многофакторного регрессионного анализа независимыми предикторами ОБ были митотическая активность и стадия по ENSAT. Стадии ENSAT I—III ассоциировались с меньшим шансом смерти по сравнению со стадией IV, но статистически значимые различия были выявлены только со стадией II ( $p=0,033$ ).

Обнаружена корреляция стадии IV классификации ENSAT с худшей ОБ по сравнению с остальными стадиями ( $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,011$  для I, II, III стадий соответственно). Подгруппы со значениями митотической активности до 10 и от 10 до 20 согласовывались с лучшей ОБ по сравнению с подгруппой, где активность была  $>20$  ( $p<0,001$ ; медиана ОБ не достигалась для первых двух групп и составляла 10 мес в последнем случае). ОБ подгруппы со значениями индекса Ki-67  $<12$  была статистически достоверно благоприятнее, чем подгрупп со значениями 12—25 ( $p=0,029$ ) и  $>25$  ( $p=0,002$ ; медиана ОБ не достигалась для первых двух групп и составляла 56 мес в последнем случае). Онкоцитарный вариант ассоциировался с лучшей ОБ по сравнению с классическим ( $p=0,005$ ). Медианы выживаемости не рассчитаны для факторов «стадия по классификации ENSAT» и «морфологический вариант», так как в подгруппах «ENSAT I» и «онкоцитарный вариант» не было событий.

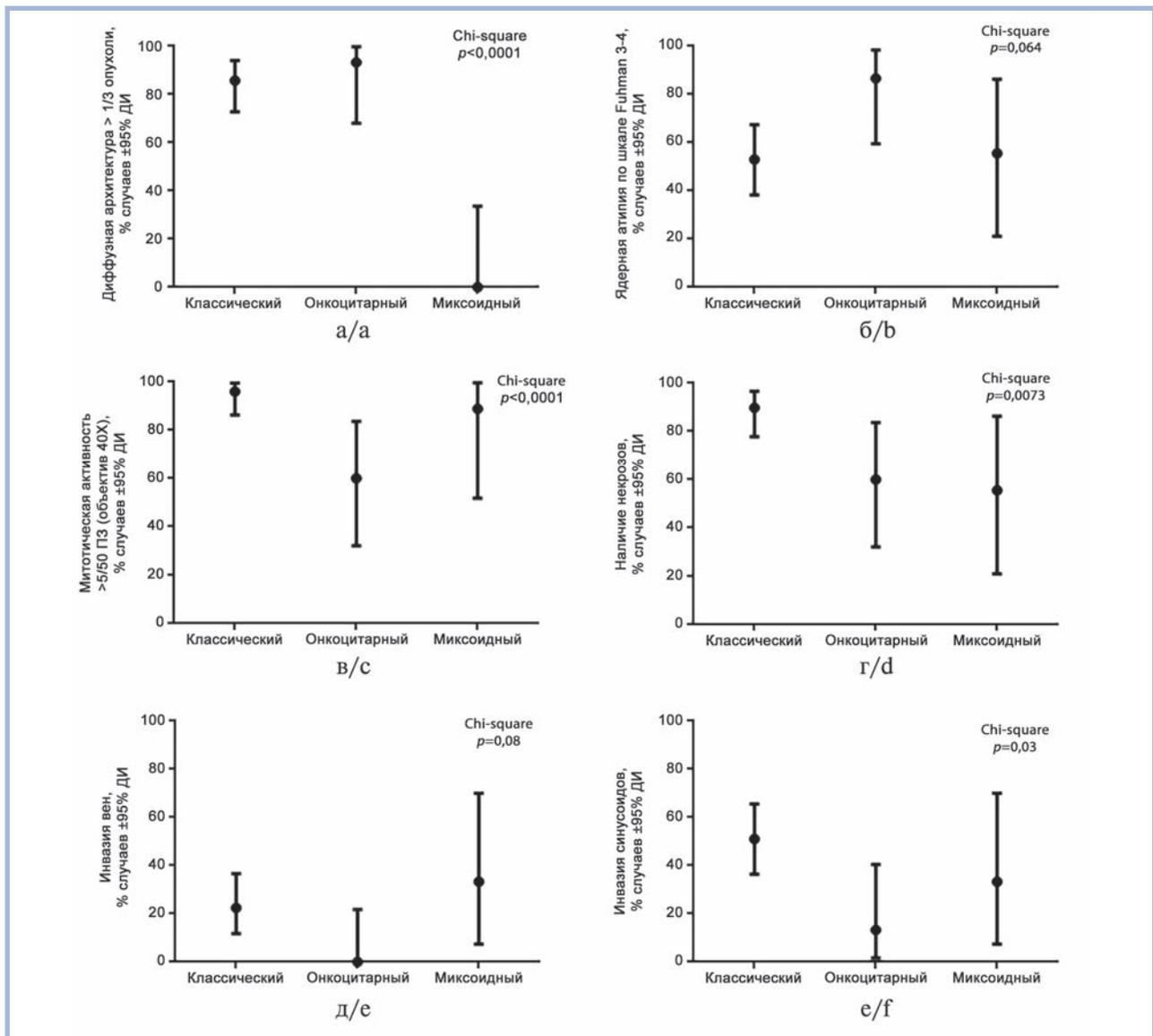


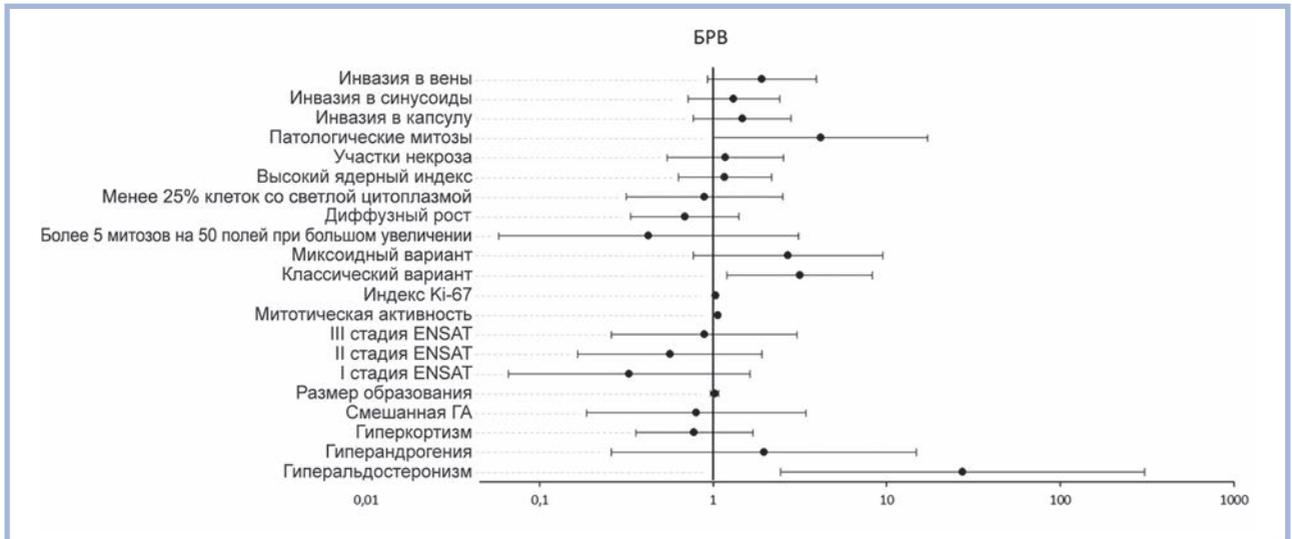
Рис. 1. Параметры шкалы Weiss при различных вариантах адренокортикального рака.

Fig. 1. Parameters of the Weiss scale for various types of adrenocortical carcinoma.

## Обсуждение

Несмотря на ограниченную распространенность АКР, изучение диагностических и прогностических особенностей данного заболевания по-прежнему занимает особое место в онкологии, эндокринологии и патоморфологии. АКР является не только наиболее часто встречающейся первичной злокачественной опухолью надпочечника [5], но и вторым по частоте после анапластической карциномы щитовидной железы злокачественным новообразованием эндокринных органов, при котором регистрируется наибольшая летальность [6]. Даже в случае высокоагрессивного биологического и клинического поведения этой злокачественной опухоли, в некоторых случаях заболевание ассоциируется с длительной БРВ и ОВ. В связи с этим задача патоморфолога состоит не только в том, чтобы установить адренокортикальное происхождение и злокачественную природу новообразования надпочечника, но и в том, чтобы охарактеризовать предполагаемую выживаемость

пациента. Достоверная прогностическая стратификация при любом онкологическом заболевании имеет крайне важное значение для принятия решения о назначении адъювантной терапии, определения особенностей последующего наблюдения пациента, а также для того, чтобы информировать пациентов касательно режима лечения, ближайших и отдаленных исходов. В случае АКР в ряде работ были идентифицированы клинико-патологические факторы, ассоциированные с повышенным риском рецидива и смерти, однако иногда данные противоречивы и не систематизированы, отсутствует консенсус в том, какие именно параметры являются ключевыми, не существует единой повсеместно принятой прогностической системы, еще не определен оптимальный метод для стратификации. Усовершенствование геномных технологий привело к появлению новых молекулярных классификаций АКР и выделению подгрупп с различными показателями выживаемости [7–10]. Однако анализ транскриптома и другие

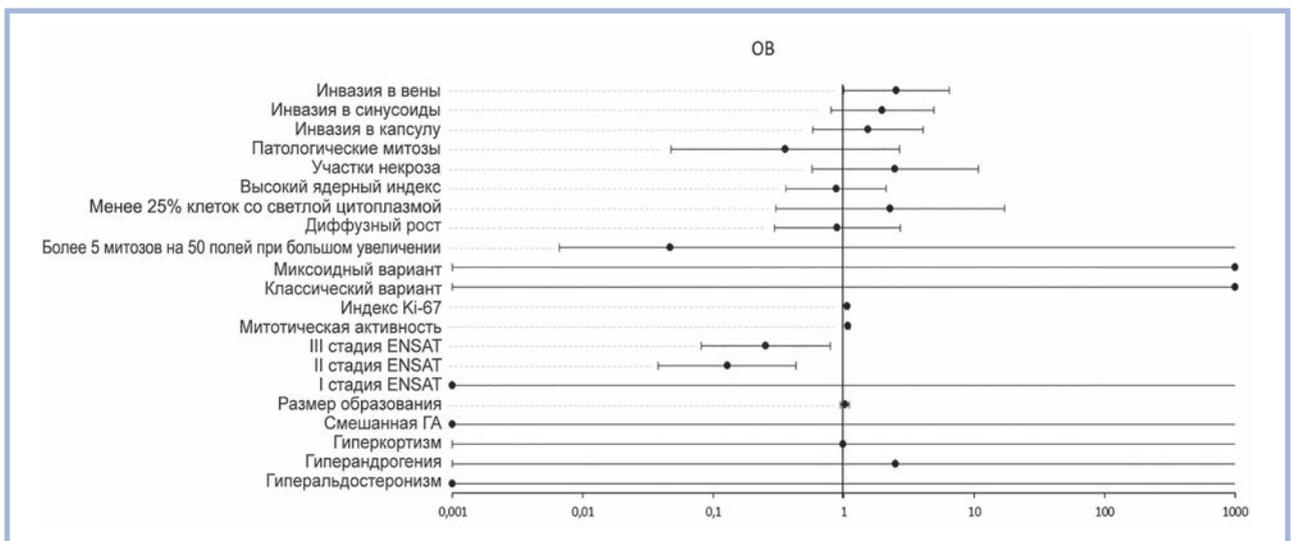


**Рис. 2. Предикторы безрецидивной выживаемости у пациентов с АКР.**

Здесь и на рис. 3: ГА — гормональная активность.

**Fig. 2. Predictors of recurrence-free survival in patients with ACC.**

Here and in fig. 3 HA — hormonal activity.

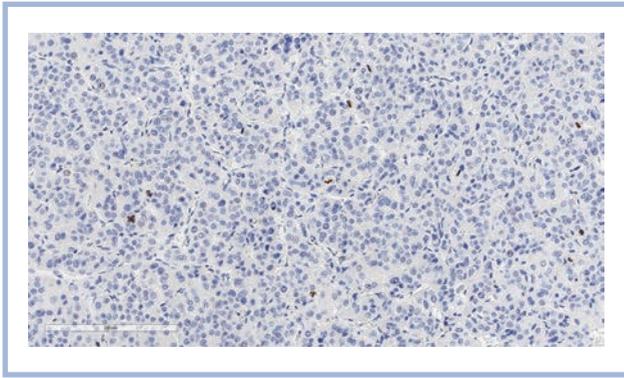


**Рис. 3. Предикторы общей выживаемости у пациентов с АКР.**

**Fig. 3. Predictors of overall survival in patients with ACC.**

молекулярные инструменты все еще не являются широко доступными, что свидетельствует о важности и необходимости использования рутинных маркеров для прогностической стратификации. В настоящем исследовании оценивалась прогностическая значимость иммуногистохимических маркеров, повсеместно использующихся в клинической практике, — Ki-67 и РНН3. В соответствии с нашими данными, оба фактора оказывали статистически достоверное влияние как на ОВ, так и на БРВ, но после включения факторов в модель множественной регрессии прогностической ценностью среди маркеров пролиферативной активности обладал только РНН3. Митотическая активность является фундаментальным критерием при диагностике адренокортикальной карциномы вне зависимости от используемого

диагностического алгоритма, корректная оценка которого особенно важна в случае пограничной степени злокачественности. При этом техническая вариабельность и различия, возникающие при диагностике разными специалистами, в значительной мере влияют на точность оценивания. Повысить точность можно при помощи специфического окрашивания антителами к РНН3, мишенью которого является белок корового гистона H3 в позиции 10 серина (рис. 4). Этот белок максимально визуализируется в процессе конденсации хромосом в раннюю профазу и незначительно — в другие фазы митотического цикла, а также в апоптоз. Окрашивание на РНН3 являлось надежным и простым методом подсчета митотического индекса в других злокачественных новообразованиях как с диагностической,



**Рис. 4.** Иммуногистохимическое окрашивание АКР антителами к фосфогистону (PHH3),  $\times 100$ .

**Fig. 4.** Immunohistochemical staining of ACC with antibodies to phosphohistone (PHH3),  $\times 100$ .

так и с прогностической целью [11]. Результаты нашей работы представляют интерес, так как в нескольких исследованиях было показано, что индекс Ki-67 имеет большее прогностическое значение при АКР, чем количество митозов. При этом подгруппы со значениями митотической активности до 10 и от 10 до 20 были статистически достоверно благоприятнее по БРВ и ОВ, чем подгруппа при значении  $>20$ , что соответствует данным предыдущих исследований, на основании которых пороговое число для разделения АКР на low-grade и high-grade составило 20. Также интересно, что была обнаружена корреляция наличия атипических митозов с худшей БРВ, так как ранее среди всех параметров шкалы Weiss единственным критерием, ассоциированным с прогнозом пациента, являлся митотический индекс [2].

Гистологические варианты АКР характеризуются выраженной морфологической гетерогенностью, а также отличаются определенными профилями иммуногистохимической экспрессии [12]. Их дальнейшее исследование имеет особое значение в контексте не только диагностического, но и прогностического применения. По данным литературы [13], медиана выживаемости составляла 17–35 мес для классического, 60 мес для онкоцитарного, 29 мес для миксоидного и 7 мес для саркоматоидного вариантов. Пятилетняя выживаемость варьировала для классического варианта от 40 до 70%, по данным работы J. Kanitra и соавт. [14], она составляла 47% для онкоцитарного варианта. Наиболее длительная выживаемость, зарегистрированная у пациентов с миксоидным вариантом, составила 69 мес [13]. Результаты нашего исследования подтверждают имеющиеся данные, что онкоцитарный вариант ассоциируется с лучшей ОВ по сравнению с классическим и миксоидным вариантами. Однако в случае БРВ различия миксоидного и онкоцитарного вариантов не достигали статистической значимости. Возможно, количество случаев в группе миксоидного варианта ( $n=8$ ) затрудняет поиск статистически значимых различий. Существуют данные, что прогноз для пациентов с миксоидным вариантом немного хуже, чем с классическим [13]. При сравнительном анализе статистически достоверные различия также обнаружены только между онкоцитарным и классическим вариантами.

Среди клинических факторов статистически значимое влияние на ОВ оказывала только стадия в соответствии с классификацией ENSAT, вместе с митотической активно-

стью являясь независимым предиктором ОВ. В случае БРВ различия не достигали статистической значимости. Следует принять во внимание, что в подгруппе ENSAT IV в случае анализа ОВ было всего 6 пациентов, а в случае БРВ — 3, что затрудняет поиск статистически значимых различий. Также была обнаружена корреляция между избыточной секрецией альдостерона и увеличением риска рецидива, но следует учитывать, что в этой группе находился только 1 пациент. В настоящее время данные о взаимосвязи функциональной активности опухоли и прогноза противоречивы. Широко обсуждается влияние гиперсекреции кортизола, которая являлась неблагоприятным фактором, ассоциировавшимся с повышенным риском рецидива и смерти в некоторых работах [2]. В то же время в ряде других исследований, в том числе в нашем, прогностическая ценность гиперкортицизма не была подтверждена.

Важно принять во внимание, что выборочная совокупность с учетом орфанного характера исследуемого заболевания и объем собранных нами клинико-патологических данных действительно велики, но в контексте регрессионного анализа этого недостаточно. При этом некоторые случаи не были включены в многофакторную модель из-за отсутствия сведений по каким-либо параметрам. Отсутствие данных обусловлено тем, что не все пациенты с самого начала наблюдались и проходили лечение в нашем учреждении. В связи с этим результаты мультифакторного регрессионного анализа на данном этапе не могут быть достаточно информативными, чтобы разрабатывать прогностическую систему. Также следует учитывать, что в настоящей работе морфологический вариант рассматривается как самостоятельный прогностический фактор. Результаты исследования подтверждают важность определения гистологического подтипа на этапе диагностики АКР в связи с различными прогностическими особенностями. Численность исследуемой когорты пациентов не позволила проанализировать параметры, характерные для каждого из четырех морфологических вариантов, которые потенциально могут быть идентифицированы как предикторы агрессивного течения заболевания. Еще более детальное исследование прогностических особенностей морфологических вариантов, определение предикторов течения и исхода для каждого подтипа, а также разработка диагностического алгоритма, который позволит усовершенствовать прогностическую стратификацию на индивидуальном уровне, создать рекомендации по персонализированному ведению пациента с учетом клинических, морфологических и иммуногистохимических характеристик заболевания, являются дальнейшими направлениями нашего исследования АКР.

## Заключение

Таким образом, в настоящей работе выявлены потенциальные морфологические, иммуногистохимические и клинические предикторы течения АКР. Насколько нам известно, это первое исследование, где выполнен комплексный анализ прогностической ценности важнейших диагностических параметров АКР. В данной работе учитывается широкий спектр факторов, на основе которых базируется диагностика АКР в клинической практике. В результате на основании совокупности клинически значимых данных пациенты могут быть разделены на отдельные прогностические группы в отношении возникновения рецидива и отдаленных исходов. Так, с повышенным риском рецидива ассоциируется наличие патологических

митозов, избыточная секреция альдостерона, смерти — IV стадия по ENSAT, рецидива и смерти — значения митотической активности >20, индекс Ki-67 >12, классический вариант. Независимыми предикторами БРВ являлись митотическая активность и гормональная активность, ОБ — митотическая активность и стадия по ENSAT.

#### Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Л.С. Урусова

Сбор и обработка материала — Л.С. Урусова, Э.Э. Порубаева, Н.В. Пачуашвили

Статистическая обработка данных — Л.С. Урусова, Э.Э. Порубаева

Написание текста — Л.С. Урусова, Э.Э. Порубаева

Редактирование — Л.С. Урусова

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Sharma E, Dahal S, Sharma P, Bhandari A, Gupta V, Amgai B, Dahal S. The characteristics and trends in adrenocortical carcinoma: a United States Population Based Study. *J Clin Med Res*. 2018;10(8):636-640. <https://doi.org/10.14740/jocmr3503w>
- Jouinot A, Bertherat J. Management of endocrine disease: adrenocortical carcinoma: differentiating the good from the poor prognosis tumors. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(5):215-230. <https://doi.org/10.1530/EJE-18-0027>
- Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J. WHO Classification of Tumours. *WHO classification of tumours of endocrine organs*. 4th ed. Vol. 10. France, Lyon: IARC; 2017.
- Mizdrak M, Tičinović Kurir T, Božić J. The role of biomarkers in adrenocortical carcinoma: a review of current evidence and future perspectives. *Biomedicines*. 2021;9(2):174. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020174>
- Chandrasekar T, Goldberg H, Klaassen Z, Wallis CJD, Woon DTS, Herrera-Caceres JO, Kulkarni GS, Fleshner NE. The who, when, and why of primary adrenal malignancies: insights into the epidemiology of a rare clinical entity. *Cancer*. 2019;125(7):1050-1059. <https://doi.org/10.1002/cncr.31916>
- Fassnacht M, Assié G, Baudin E, Eisenhofer G, de la Fouchardier C, Haak HR, de Krijger R, Porpiglia F, Terzolo M, Berruti A, ESMO Guidelines Committee. Adrenocortical carcinomas and malignant pheochromocytomas: ESMO—EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1476-1490. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2099>
- de Reyniès A, Assié G, Rickman DS, Tissier F, Groussin L, René-Corail F, Dousset B, Bertagna X, Clauser E, Bertherat J. Gene expression profiling reveals a new classification of adrenocortical tumors and identifies molecular predictors of malignancy and survival. *J Clin Oncol*. 2009;27(7):1108-1115. <https://doi.org/10.1200/jco.2008.18.5678>
- Giordano TJ, Kuick R, Else T, Gauger PG, Vinco M, Bauersfeld J, Sanders D, Thomas DG, Doherty G, Hammer G. Molecular classification and prognostication of adrenocortical tumors by transcriptome profiling. *Clin Cancer Res*. 2009;15(2):668-676. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-1067>
- Assié G, Letouze E, Fassnacht M, Jouinot A, Luscap W, Barreau O, Omeiri H, Rodriguez S, Perlemoine K, René-Corail F, et al. Integrated genomic characterization of adrenocortical carcinoma. *Nat Genet*. 2014;46(6):607-612. <https://doi.org/10.1038/ng.2953>
- Assié G, Jouinot A, Fassnacht M, Libé R, Garinet S, Jacob L, Hamzaoui N, Neou M, Sakat J, de La Villéon B, et al. Value of molecular classification for prognostic assessment of adrenocortical carcinoma. *JAMA Oncol*. 2019;5(10):1440-1447. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.1558>
- Duregon E, Molinaro L, Volante M, Ventura L, Righi L, Bol-la S, Terzolo M, Sapino A, Papotti MG. Comparative diagnostic and prognostic performances of the hematoxylin-eosin and phospho-histone H3 mitotic count and Ki-67 index in adrenocortical carcinoma. *Mod Pathol*. 2014;27(9):1246-1254. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.230>
- Ткачук А.В., Тертычный А.С., Бельцевич Д.Г., Рослякова А.А., Белоусов П.В., Селиванова Л.С. Адrenокортикальный рак: морфологические варианты, иммуногистохимическая характеристика. *Архив патологии*. 2021;83(2):10-18. Ткачук AV, Tertychnyi AS, Beltsevich DG, Roslyakova AA, Belousov PV, Selivanova LS. Adrenocortical cancer: morphological variants, immunohistochemical characteristics. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2021;83(2):10-18. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20218302110>
- Lam AKY. Adrenocortical carcinoma: updates of clinical and pathological features after renewed World Health Organisation Classification and Pathology Staging. *Biomedicines*. 2021;9(2):175. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020175>
- Kanitra JJ, Hardaway JC, Soleimani TJ, Koehler T, McLeod MK, Kavuturu S. Adrenocortical oncocytic neoplasm: a systematic review. *Surgery*. 2018;164(6):1351-1359. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2018.04.044>

Поступила 04.03.2022

Received 04.03.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Новое в Классификации новообразований легких и плевры (ВОЗ, 2021 г., 5-е издание)

© А.Н. БЕЛКИН, Г.Г. ФРЕЙНД

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

### РЕЗЮМЕ

Статья содержит обзор новой Классификации ВОЗ опухолей торакальной локализации (2021 г.). Как и в предыдущем издании 2015 г., значительное внимание уделено новообразованиям легких и плевры. В статье представлены современные данные о молекулярно-генетических особенностях и морфологических проявлениях ряда новых опухолей легких с подробной гистологической и иммуногистохимической картиной. Описаны торакальная недифференцированная опухоль с дефицитом SMARCA4 и бронхиолярная аденома. Сделан акцент на алгоритмах морфологической диагностики, включающих полную характеристику опухоли и облегчающих исследование в практике врача-патологоанатома. Приведены основные морфологические критерии мезотелиальных опухолей плевры; подробно описан порядок оценки степени злокачественности диффузной эпителиоидной мезотелиомы плевры и немущинозных аденокарцином легких.

**Ключевые слова:** классификация ВОЗ, опухоли легких, опухоли плевры.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Белкин А.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-8646-0483>

Фрейд Г.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-2861-4878>

**Автор, ответственный за переписку:** Белкин А.Н. — e-mail: [belkinanton87@gmail.com](mailto:belkinanton87@gmail.com)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Белкин А.Н., Фрейд Г.Г. Новое в Классификации новообразований легких и плевры (ВОЗ, 2021 г., 5-е издание). *Архив патологии*. 2022;84(5):28–34. <https://doi.org/10.17116/patol20228405128>

## A new one in the lung and pleura neoplasms classification (WHO, 2021, 5<sup>th</sup> edition)

© A.N. BELKIN, G.G. FREYND

Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia

### ABSTRACT

The article contains an overview of the new WHO classification of thoracic tumors (2021). As in the previous edition of 2015, considerable attention is paid to neoplasms of the lungs and pleura. The article presents current data on molecular genetic features and morphological manifestations of a number of new lung tumors, with a detailed histological and immunohistochemical data. Thoracic undifferentiated tumor with SMARCA4 deficiency and bronchiolar adenoma are described. Emphasis is placed on the algorithms of morphological diagnostics, including a complete description of the tumor and facilitating the study in the practice of a pathologist. The main morphological criteria of mesothelial tumors of the pleura are given; describes in detail the procedure for assessing the degree of malignancy of diffuse epithelioid pleural mesothelioma and non-mucinous lung adenocarcinomas.

**Keywords:** WHO classification, lung tumors, pleura tumors.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Belkin A.N. — <https://orcid.org/0000-0002-8646-0483>

Freynd G.G. — <https://orcid.org/0000-0002-2861-4878>

**Corresponding author:** Belkin A.N. — e-mail: [belkinanton87@gmail.com](mailto:belkinanton87@gmail.com)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Belkin AN, Freynd GG. A new one in the lung and pleura neoplasms classification (WHO, 2021, 5<sup>th</sup> edition). *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):28–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405128>

Классификация опухолей органов грудной локализации, впервые изданная Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1981 г., неоднократно пересматривалась с учетом полученных новых данных о пато- и морфогенезе опухолей. В создании последней редакции классификации (2021 г.) приняли участие более 200 специалистов из ведущих

научно-исследовательских институтов США, Европы, Азии. Опубликованные данные были подготовлены при сотрудничестве с Международной ассоциацией по изучению опухолей легких (IASLC), Международной группой по изучению злокачественных новообразований тимуса (ITMIG) и Международной группой по изучению мезотелиомы (IMP).

Новое издание включает 10 глав. В основу выделения глав классификации положен топографический принцип. Наиболее заметным изменением в новой классификации является то, что сведения о гистологически однородных опухолях разных органов объединены в отдельные главы. Авторы подробно описывают широкий спектр онкологической патологии и не ограничиваются только характеристикой эпителиальных опухолей легких, тимуса, плевры, но рассматривают также мезенхимальные опухоли, герминоклеточные и лимфопролиферативные опухоли, опухоли эктопированных щитовидной и паращитовидных желез, метастатические опухоли и генетические синдромы, при которых поражаются органы грудной локализации. Международная классификация онкологических заболеваний (ICD-0), классификация опухолей по принципу TNM, а также особенности стадирования ходжкинских и неходжкинских лимфом грудной полости выделены в отдельные главы. Наряду с классическими данными о различных новообразованиях (эпидемиология, этиология, патогенез, локализация и клинические особенности, макроскопические особенности, гисто-, цитопатология, прогностические и предиктивные факторы) в описание каждого типа и подтипа опухолей авторами включено 2 новых раздела: «Молекулярно-генетическая диагностика» и «Основные и дополнительные диагностические критерии» — резюмирующий раздел, призванный оказать помощь в повседневной практике клинического патолога. Каждый тип опухоли рассмотрен на основе таксономической классификации, позволяющей унифицировать терминологию. Термин «вариант опухоли» был заменен на «подтип опухоли» во всех разделах. В этом издании авторы стандартизировали использование единиц длины, приняв соглашение, используемое Международным сотрудничеством по статистике онкологических заболеваний и Королевским колледжем патологов Великобритании. Размер опухолей рекомендуется указывать в миллиметрах (мм), а не в сантиметрах (см). По мнению авторов, это позволяет избежать использования десятичных знаков — частого источника медицинских ошибок. Другим важным изменением в этом издании является преобразование оценки количества митозов из традиционного показателя 10 в 10 полях зрения при увеличении 200 в определенную площадь, выраженную в мм<sup>2</sup>. Это позволяет стандартизировать истинную площадь ткани опухоли, в которой проводится подсчет митозов, поскольку разные микроскопы имеют различный размер поля зрения большого увеличения. Эти изменения также призваны облегчить морфологическую диагностику опухолей с использованием цифровых систем.

## Опухоли легких

В главе «Опухоли легких» авторами подробно охарактеризованы доброкачественные и злокачественные эпителиальные новообразования. Среди них выделены следующие группы новообразований [1]:

1. Папилломы.
2. Аденомы.
3. Прекурсоры аденокарцином.
4. Аденокарциномы.
5. Прекурсоры плоскоклеточных карцином.
6. Плоскоклеточные карциномы.
7. Крупноклеточная карцинома.
8. Аденосквамозная карцинома.
9. Саркоматоидные карциномы.

10. Другие эпителиальные опухоли, включающие NUT-карциному и торакальную недифференцированную опухоль с дефицитом SMARCA4.

11. Опухоли по типу опухолей слюнных желез.

12. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) легких.

В новой классификации, как и в издании 2015 г., сохраняется принципиально разный подход к морфологической диагностике биопсийного/цитологического материала и операционного материала, что определяет тактику лечения пациента [2]. При исследовании биоптатов патоморфологическое заключение должно содержать данные о гистогенезе и гистологическом типе опухоли с учетом ее иммунофенотипа. Авторы делают акцент на необходимости бережного обращения с биоптатами для обеспечения возможности проведения молекулярно-генетического исследования на дооперационном этапе. При сложности диагностики гистологического типа опухоли в комментариях к заключению также предлагается определять дифференциально-диагностический ряд из возможных нозологических форм. Помимо этого, в комментариях рекомендуется отмечать предпочтительный гистологический блок или фрагмент ткани для молекулярно-генетического исследования, а также достаточность количества материала для данного теста в целом.

В новой классификации более подробно описан патогенез карцином легких в зависимости от локализации, гистологического типа, ассоциации с курением или различными активирующими мутациями. Опухоли центральной локализации развиваются из эпителия бронхов, обычно имеют плоскоклеточный или мелкоклеточный гистотип и связаны с курением. С другой стороны, периферические опухоли развиваются из терминальной респираторной единицы и, как правило, не связаны с курением. В их развитии играют роль другие, до конца неясные патологические факторы, приводящие к активирующим мутациям в генах *EGFR*, *ROS*, *BRAF* и др. Гистологически данные опухоли чаще всего представлены аденокарциномами. Следует отметить, что часть аденокарцином с мутацией в генах *KRAS* ассоциирована с курением. Данные опухоли отличаются более центральной локализацией.

Определение подтипов инвазивной немущинозной аденокарциномы легких на основе преобладающей гистологической картины в настоящее время является стандартом диагностики аденокарциномы легкого, поскольку это имеет прогностическое значение. Опухоли с преобладанием «стелющегося» паттерна роста имеют лучший прогноз, опухоли с превалированием папиллярных или ацинарных структур характеризуются промежуточным прогнозом, а микропапиллярные и солидные опухоли имеют худший прогноз [3]. Однако есть дополнительные особенности опухолей, которые традиционно определяют прогноз, — ядерная атипия, митотическая активность, очаги некроза и учитывающееся в последнее время распространение по воздухоносным путям (STAS). В исследовании, проведенном Комитетом патологии IASLC, установлено, что наличие в опухолевой паренхиме 20% или более дополнительных паттернов высокой степени злокачественности (микропапиллярный, солидный), кривоформный), помимо основного паттерна, может увеличить риск рецидива или смерти пациента [4]. На основе этих результатов была предложена система дифференциации IASLC для инвазивной немущинозной аденокарциномы легких (табл. 1). Эта система классификации улучшает стратификацию прогноза у пациентов с не-

**Таблица 1.** Оценка резецированной на ранней стадии немучинозной аденокарциномы легких по степени дифференцировки**Table 1.** Evaluation of non-mucinous lung adenocarcinoma, resected at an early stage according to the degree of differentiation

Grade	Степень дифференцировки	Гистологический паттерн
1	Высокодифференцированная	«Стелющийся» без или менее чем с 20% паттернов высокой степени (см. ниже)
2	Умеренно дифференцированная	Ацинарный и папиллярный без или менее чем с 20% паттернов высокой степени (см. ниже)
3	Низкодифференцированная	Любая опухоль с наличием более 20% паттернов высокой степени (солидного, микропапиллярного, криброзного, сложного железистого*)

Примечание. \* — сливающиеся между собой железы или отдельные клетки/группы клеток, инфильтрирующие десмопластическую строму.

муцинозной аденокарциномой в сравнении с прогнозированием, основанным только на преобладающем паттерне.

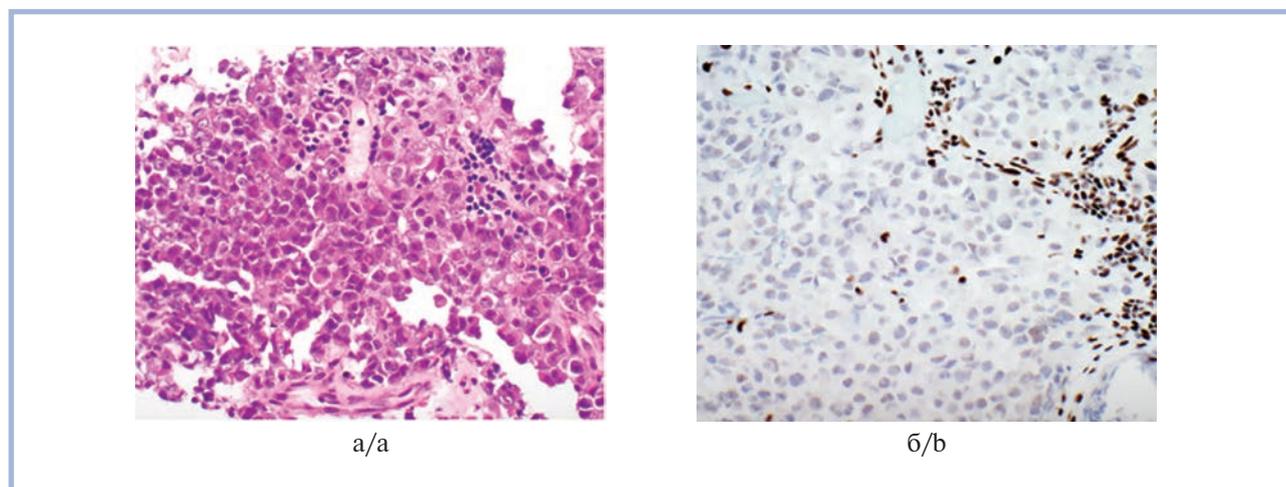
В новой классификации лимфоэпителиомаподобная карцинома, ассоциированная с вирусом Эпштейна—Барр и не связанная с курением, переименована в **лимфоэпителиальную карциному** и на основе иммунофенотипа опухолевых клеток классифицирована как подтип плоскоклеточной карциномы. Как и в классификации 2015 г., ВОЗ по-прежнему не определяет критерии степени дифференцировки плоскоклеточной карциномы легкого. Подразделение плоскоклеточной карциномы на опухоль с кератинизацией, без кератинизации и базалоидный тип не отражает степень злокачественности и не является определяющим прогностическим фактором.

В группе злокачественных эпителиальных новообразований выделена новая **торакальная недифференцированная опухоль с дефицитом SMARCA4** — опухоль высокой степени злокачественности с эпителиальным или рабдоидным фенотипом, обычно поражающая легкое с вовлечением плевры и тканей грудной клетки, средостения у молодых людей (средний возраст 48 лет), чаще мужчин, с выраженной ассоциацией с курением [5].

Особенностью опухолевых клеток является дефицит белка SMARCA4 (BRG-1) в результате мутации в соответ-

ствующем гене, участвующем в ремоделировании хроматина в составе комплекса BAF, что может быть выявлено при иммуногистохимическом исследовании. Гистологически опухоль построена из солидных полей и гнезд крупных мономорфных округлых клеток с везикулярным хроматином ядер и ядрышками. Характерно обилие фигур митозов и очагов некроза (**рис. 1**).

В случае выявления опухоли с подобной гистологической картиной авторы советуют проводить дифференциальную диагностику с лимфопролиферативными заболеваниями, NUT-карциномой, герминоклеточными опухолями, нейроэндокринными карциномами, меланомой и разными типами низкодифференцированных сарком. Следует учитывать, что мутация в гене *SMARCA4* иногда (до 5% случаев) выявляется в немелкоклеточных карциномах легких; в этих случаях необходимо ориентироваться на морфологические данные: наличие характерных признаков железистой или плоскоклеточной дифференцировки (в том числе при иммуногистохимическом исследовании) [6]. Поскольку опухоли с аналогичной мутацией могут метастазировать в ткани грудной клетки из других органов (например, из матки, яичника, желудка, почек и поджелудочной железы), корреляция с клиническими данными является обязательной. При иммуногистохимическом исследова-

**Рис. 1.** Торакальная недифференцированная опухоль с дефицитом SMARCA4 [12].

а — фрагмент ткани опухоли из солидных скоплений эпителиоидных клеток с округлыми ядрами и ядрышками; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ; б — иммуногистохимическое исследование с антителами к белку BRG-1: отсутствие экспрессии в опухолевых клетках при положительном внутреннем контроле,  $\times 200$ .

**Fig. 1.** Thoracic undifferentiated tumor with SMARCA4 deficiency [12].

a — fragment of tumor tissue from solid structures of epithelioid cells with rounded nuclei and nucleoli. H&E stain,  $\times 200$ ; b — immunohistochemical study with antibodies to the BRG-1 protein: no expression in tumor cells with a positive internal control,  $\times 200$ .

Таблица 2. Морфологические диагностические критерии нейроэндокринных опухолей легких

Table 2. Morphological diagnostic criteria for neuroendocrine lung tumors

Параметр	Типичный карциноид	Атипичный карциноид	Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома	Мелкоклеточная карцинома
Митозы/2 мм <sup>2</sup>	Менее 2	2—10	Более 10 (медиана — 70)	Более 10 (медиана — 80)
Некрозы	Нет	Фокальные	Многочисленные	Многочисленные

нии опухолевые клетки могут фокально экспрессировать цитокератины и синаптофизин. Ввиду агрессивного поведения опухоли, неэффективности химиотерапевтического лечения «классическими» препаратами прогноз для пациентов остается неблагоприятным: медиана выживаемости составляет 4—7 мес [7].

Среди НЭО легких по-прежнему принято выделять карциноиды (типичный и атипичный) и нейроэндокринные карциномы (мелко- и крупноклеточную). Классификационными критериями для дифференциальной диагностики между ними являются количество митозов/2 мм<sup>2</sup> и наличие очагов некроза (табл. 2). Данные критерии рекомендуется применять только для первичных НЭО легкого, а не для метастатических. Точные пороговые значения индекса пролиферативной активности Ki-67 для НЭО не установлены, поэтому данный показатель носит дополнительный факультативный характер; он может использоваться при дифференциальной диагностике карциноидов (он составляет до 5% у типичных и до 30% у атипичных карциноидов) с низкодифференцированными нейроэндокринными карциномами (Ki-67 >30%) в материале биопсий.

Авторами выделена также **нейроэндокринная опухоль/карциноид с высокой митотической активностью**, высоким индексом Ki-67. Морфологически она обычно представлена атипичным карциноидом с большим количеством митозов в опухолевых клетках (>10/2 мм<sup>2</sup>) и Ki-67 >30%. При этом отсутствуют потеря белка RB1, мутация в гене TP53 и типична низкая общая мутационная нагрузка, что нехарактерно для нейроэндокринных карцином.

При гистологической диагностике биоптатов с признаками высокодифференцированных НЭО рекомендуется использовать заключение «карциноид, БДУ», в комментариях необходимо указывать наличие очагов некроза и фигур митозов в опухолевых клетках. Таким образом, полноценная дифференцировка типичного карциноида от атипичного возможна только на материале резектатов.

При анализе резектатов метастатических карциноидов легких из предшествующего карциноида легкого или НЭО других локализаций в заключении рекомендуется использовать формулировку «метастатическая нейроэндокринная опухоль, БДУ». Следует учитывать, что для метастазов НЭО описан феномен повышения пролиферативной активности (Ki-67 >30%) и количества митозов в опухолевых клетках, однако это не должно быть поводом для интерпретации данного новообразования как нейроэндокринной карциномы.

В главе «Опухоли легких по типу слюнных желез» фигурирует новая нозологическая единица: **гиалинизирующая светлоклеточная карцинома** — редкая (описано 11 случаев) карцинома низкой степени злокачественности с преимущественно «центральной» локализацией в легких, имеющая небольшой (9—35 мм) размер. Гистологическое строение аналогично известной опухоли слюнных желез: построена из тяжей, трабекул и гнезд клеток с оптически пустой и/или эозинфильной цитоплазмой и разделенных фиброз-

ной стромой с участками миксоматоза и гиалиноза. Прогноз для пациентов после радикального удаления опухоли благоприятный, рецидивы не описаны [8].

Среди доброкачественных опухолей выделена новая нозологическая единица: **бронхиолярная аденома/реснитчатая муконодулярная папиллярная опухоль (ICD-O 8140/0)** — редкая доброкачественная периферическая опухоль легких диаметром до 45 мм с вовлечением перибронхиолярной легочной паренхимы. Клетки опухоли формируют папиллярные структуры с фиброваскулярной основой или напоминают «стелющийся» характер роста при соответствующем подтипе аденокарциномы. Важным диагностическим признаком служит наличие двухслойности в расположении клеток: выделяют так называемый люминальный слой клеток, представленный реснитчатым или слизьпродуцирующим эпителием, пневмоцитами II типа и клетками Клара. Под ними расположен слой базальных клеток. В отдельных случаях клетки люминального слоя могут формировать микропапиллярные структуры, наличие которых не является признаком злокачественной трансформации. Ядерная атипия и митозы нехарактерны. Строма опухоли может быть выражена в различной степени, но чаще небогатая (рис. 2).

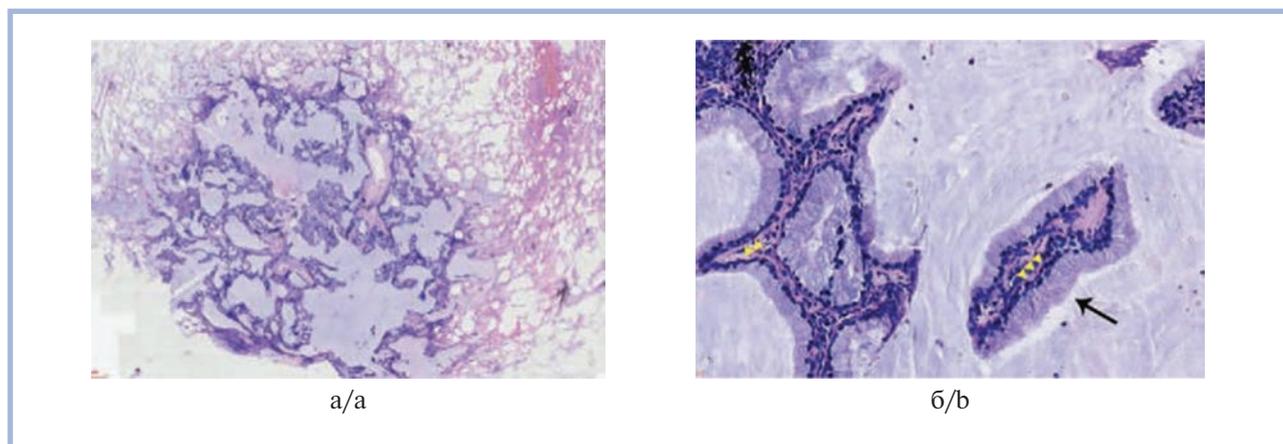
При иммуногистохимическом исследовании установлено, что клетки люминального слоя экспрессируют TTF-1, клетки базального слоя — p40 и цитокератины 5/6. Интересен тот факт, что клетки опухоли содержат драйверные мутации в таких генах, как *BRAF*, *EGFR*, *KRAS*, *HRAS* и *ALK*, также характерные для карцином легких. Тем не менее, по мнению авторов, клинического значения эти мутации не имеют и не должны рассматриваться как предикторы развития карциномы [9].

## Опухоли плевры

Среди опухолей плевры выделены следующие группы и нозологические единицы [1]:

1. Доброкачественные и прединвазивные опухоли мезотелиа.
2. Аденоматоидная опухоль плевры.
3. Высокодифференцированная папиллярная мезотелиальная опухоль плевры.
4. Мезотелиома плевры: локализованный и диффузный типы.

**Мезотелиома in situ** — это прединвазивная «однослойная» пролиферация атипичных мезотелиоцитов на поверхности серозных полостей, обычно развивающаяся у предрасположенных пациентов, в первую очередь при воздействии асбестовой пыли и после радиационной терапии. Ввиду сложности диагностики мезотелиома *in situ* требует тщательного сопоставления клинических, инструментальных и морфологических данных. При торакоскопии опухоль, как правило, не выявляется, однако косвенными признаками могут служить наличие плеврального выпота, спаек, участков утолщения плевры и появление на плевре



**Рис. 2. Бронхиолярная аденома/реснитчатая муконодулярная папиллярная опухоль легкого [13].**

а — пролиферация опухолевых клеток в альвеолах с очаговым формированием папиллярных и аденоидных структур с обильным внеклеточным муцином; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 40$ ; б — люминальный слой опухолевых клеток представлен высоким столбчатым эпителием (черная стрелка), непрерывный базальный слой — из уплощенного эпителия (желтые стрелки); окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ .

**Fig. 2. Bronchiolar adenoma/ciliated muconodular papillary tumor of the lung [13].**

a — proliferation of tumor cells in the alveoli with focal formation of papillary and adenoid structures, with abundant extracellular mucin. H&E stain,  $\times 40$ ; b — the luminal layer of tumor cells is represented by high columnar epithelium (black arrow), a continuous basal layer consists of flattened epithelium (yellow arrows). H&E stain,  $\times 400$ .

мелких узелков. Для исключения диагноза «мезотелиома *in situ*» показана торакоскопия с забором больших по размеру биоптатов (в идеале 100—200 мм<sup>2</sup>) из нескольких участков плевры у пациентов с нерассасывающимся плевральным выпотом; небольшие биоптаты плевры неинформативны для диагностики. Гистологически мезотелиома *in situ* представлена слоем уплощенных и/или кубовидных мезотелиоцитов с признаками цитологической атипии (от минимальной до выраженной), наличием ядрышек, без признаков инвазии. В отдельных участках опухолевые клетки могут формировать единичные папиллярные структуры. Необходимо проводить дифференциальную диагностику с реактивной мезотелиальной пролиферацией и высококодифференцированной папиллярной мезотелиальной опухолью. Клетки мезотелиомы *in situ*, в отличие от реактивной пролиферации мезотелия, характеризуются потерей ядерной экспрессии белка VAP1 и гомозиготной делецией гена *CDKN2A* (рис. 3).

Высокодифференцированную папиллярную мезотелиальную опухоль трудно отличить от мезотелиомы *in situ*. Выявление зернистой плевральной поверхности или плевральных узелков диаметром несколько миллиметров при торакокопии служит диагностическим критерием для высококодифференцированной папиллярной мезотелиальной опухоли. В системе стадирования опухолей по TNM в настоящее время отсутствует отдельная категория для мезотелиомы *in situ*. Прогноз благоприятный, однако при отсутствии лечения опухоль может прогрессировать в инвазивную мезотелиому [10].

Авторами подробно описана диффузная мезотелиома, включающая эпителиоидный, саркоматоидный и бифазный подтипы. В ряде исследований показано, что степень дифференцировки эпителиоидной мезотелиомы выступает важным предиктивным фактором, влияющим на прогноз заболевания [11]. Для эпителиоидной диффузной мезотелиомы предложено использовать следующую систему оценки:

#### I. Изменения ядер опухолевых клеток

1. Ядерный полиморфизм: слабовыраженный (1 балл: мелкодисперсный хроматин и отсутствие ядрышек), умеренно выраженный (2 балла: промежуточное ядерно-цитоплазматическое соотношение и немногочисленные ядрышки), выраженный (3 балла: низкое ядерно-цитоплазматическое соотношение и многочисленные ядрышки).

2. Митотическая активность: слабовыраженная — 1 балл (до 1 митоза в 1 мм<sup>2</sup>), умеренно выраженная — 2 балла (2—4 митоза в 1 мм<sup>2</sup>), выраженная — 3 балла (>5 митозов в 1 мм<sup>2</sup>).

3. Сумма показателей ядерной атипии (показатели 1, 2) — 2 или 3 балла — ядерный grade I; 4 или 5 баллов — ядерный grade II; 6 баллов — ядерный grade III.

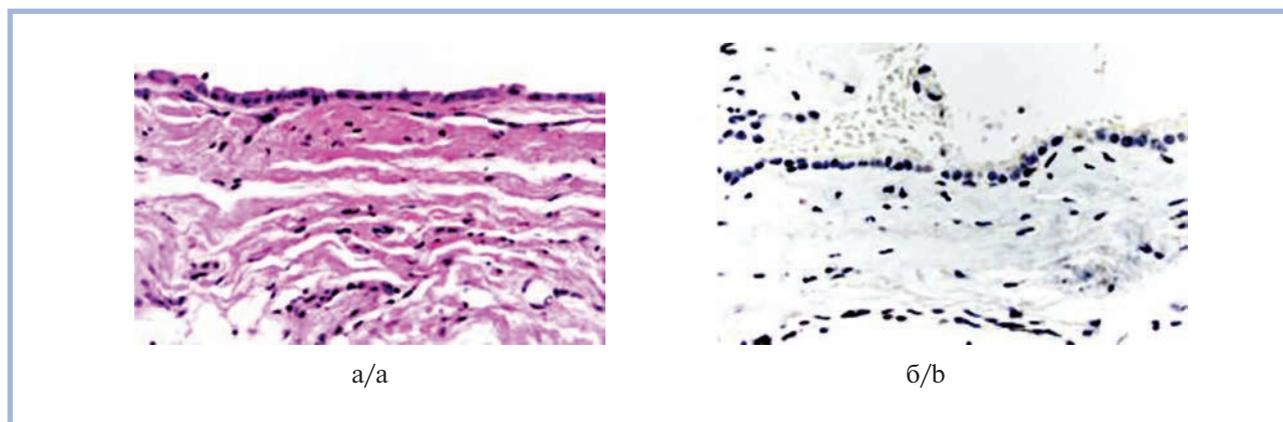
#### II. Некрозы: есть/нет.

Степень злокачественности опухоли:

— Опухоль низкой степени злокачественности (low grade) — ядерный grade I или II без некрозов.

— Опухоль высокой степени злокачественности (high grade) — ядерный grade II с некрозами или ядерный grade III независимо от наличия некрозов.

В данной главе подробно охарактеризованы также гистологические признаки, позволяющие отличить мезотелиому от реактивной пролиферации мезотелия. Для последней, в частности, характерны отсутствие стромальной инвазии, возможность формирования единичных папиллярных структур, рост на поверхности и в толще плевры (даже если плевра утолщена за счет фиброза при хроническом воспалении) без инвазии в жировую ткань, если речь идет о париетальной плевре. Кроме того, при реактивной пролиферации мезотелия отсутствуют некрозы. Цитологическая атипия мезотелия может быть выражена в разной степени в участках организации экссудата. Следует отметить, что ведущим методом дифференциальной диагностики доброкачественной и злокачественной пролиферации мезотелия остается иммуногистохимическое исследование с антителами к белку VAP1 и FISH-



**Рис. 3. Мезотелиома *in situ* [14].**

а — поверхность плевры выстлана монослоем клеток с умеренными признаками ядерной атипии; окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ ; б — отсутствие ядерной экспрессии BAP1 опухолевыми клетками, иммуногистохимическое исследование,  $\times 200$ .

**Fig. 3. Mesothelioma *in situ* [14].**

a — the surface of the pleura is lined with a monolayer of cells with moderate features of nuclear atypia. H&E stain,  $\times 200$ ; b — the absence of nuclear expression of BAP1 by tumor cells, immunohistochemical study,  $\times 200$ .

исследование с выявлением гомозиготной делеции гена *CDKN2A*.

На основе анализа данных нескольких исследовательских групп авторами выделены основные признаки, которые должны быть отражены в патолого-анатомическом заключении у пациентов с мезотелиомой плевры и перикарда. К ним относятся:

1. Локализация опухоли, тип исследуемого образца.
2. Гистологический тип опухоли: эпителиоидный, бифазный или саркоматоидный/десмопластический.
2. Степень злокачественности (только для эпителиоидной мезотелиомы) низкая или высокая в соответствии с представленными критериями. Следует отметить, что подразделение саркоматоидной мезотелиомы на различные подтипы в соответствии со степенью злокачественности не предусмотрено: опухоль по умолчанию является карциномой высокой степени (high grade).
4. Характеристика основных паттернов роста эпителиоидной мезотелиомы (тубулопапиллярный, трабекулярный,

железистый, микропапиллярный, солидный) с указанием примерного их процента в общей массе опухоли. Показано, что прогноз для пациентов наиболее неблагоприятный при преобладании солидного паттерна роста опухоли, составляющего  $>50\%$ .

## Заключение

Таким образом, новая классификация торакальных опухолей более полно отражает основные клинические, морфологические и молекулярно-генетические особенности часто встречающихся доброкачественных и злокачественных новообразований легких и плевры. Лаконичное современное изложение материала делает это руководство незаменимым в практической деятельности врача-патологоанатома.

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. WHO Classification of Tumours. *Thoracic tumours*. WHO classification of tumours editorial board. 5<sup>th</sup> ed. Vol. 5. France, Lyon: IARC; 2021. <https://tumourclassification.iarc.who.int>
2. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *WHO classification of tumors of the lung, pleura, thymus and heart*. France, Lyon: IARC; 2015. [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)33571-1/fulltext#relatedArticles](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)33571-1/fulltext#relatedArticles)
3. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, Beer DG, Powell CA, Riely GJ, Van Schil PE, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011;6(2):244-285. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318206a221>.
4. Moreira AL, Ocampo PSS, Xia Y, Zhong H, Russell PA, Minami Y, Cooper WA, Yoshida A, Bubendorf L, Papotti M, et al. A grading system for invasive pulmonary adenocarcinoma: a proposal from the International Association for the Study of Lung Cancer Pathology Committee. *J Thorac Oncol*. 2020;15(10):1599-1610. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.06.001>
5. Rekhtman N, Montecalvo J, Chang JC, Alex D, Ptashkin RN, Ai N, Sauter JL, Kezlarian B, Jungbluth A, Desmeules P, et al. SMARCA4-deficient thoracic sarcomatoid tumors represent primarily smoking-related undifferentiated carcinomas rather than primary thoracic sarcomas. *J Thorac Oncol*. 2020;15(2):231-247. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.10.023>
6. Matsubara D, Kishaba Y, Ishikawa S, Sakatani T, Oguni S, Tamura T, Hoshino H, Sugiyama Y, Endo S, Murakami Y, et al. Lung cancer with loss of BRG1/BRM, shows epithelial mesenchymal transition phenotype and distinct histologic and genetic features. *Cancer Sci*. 2013;104(2):266-273. <https://doi.org/10.1111/cas.12065>
7. Le Loarer F, Watson S, Pierron G, de Montpreville VT, Ballet S, Firmin N, Auguste A, Pissaloux D, Boyault S, Paindavoine S, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated tho-

- racic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. *Nat Gen.* 2015;47(10):1200-1205.  
<https://doi.org/10.1038/ng.3399>
8. Garcia JJ, Jin L, Jackson SB, Larsen BT, Lewis JE, Sukov WR, Roden AC. Primary pulmonary hyalinizing clear cell carcinoma of bronchial submucosal gland origin. *Hum Pathol.* 2015;46(3):471-475.  
<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2014.11.010>
9. Udo E, Furusato B, Sakai K, Prentice LM, Tanaka T, Kitamura Y, Tsuchiya T, Yamasaki N, Nagayasu T, Nishio K, Fukuoka J. Ciliated muconodular papillary tumors of the lung with KRAS/BRAF/AKT1 mutation. *Diagn Pathol.* 2017;12(1):62.  
<https://doi.org/10.1186/s13000-017-0651-2>
10. Churg A, Galateau-Salle F, Roden AC, Attanoos R, von der Thusen JH, Tsao MS, Chang N, De Perrot M, Dacic S. Malignant mesothelioma in situ: morphologic features and clinical outcome. *Mod Pathol.* 2020;33(2):297-302.  
<https://doi.org/10.1038/s41379-019-0347-0>
11. Rosen LE, Karrison T, Ananthanarayanan V, Gallan AJ, Adu-sumilli PS, Alchami FS, Attanoos R, Brcic L, Butnor KJ, Galateau-Salle F, et al. Nuclear grade and necrosis predict prognosis in malignant epithelioid pleural mesothelioma: a multi-institutional study. *Mod Pathol.* 2018;31(4):598-606.  
<https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.170>
12. Roden CA. Thoracic SMARCA4-deficient undifferentiated tumor — a case of aggressive neoplasm — case report. *Mediastinum.* 2021;5:39.  
<https://doi.org/10.21037/med-20-15>
13. Liu S, Liu N, Xiao M, Wang L, En-Hua Wang. First case of bronchiolar adenoma lined purely by mucinous luminal cells with molecular analysis. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(39):e22322.
14. Nicholson AG, Sauter JL, Nowak AK, Kindler HL, Gill RR, Remy-Jardin M, et al. EURACAN/IASLC Proposals for Updating the Histologic Classification of Pleural Mesothelioma: Towards a More Multidisciplinary Approach. *J Thorac Oncol.* 2020;15(1):29-49.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.2506>

Поступила 20.05.2022

Received 20.05.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Аденокарцинома легкого на фоне обычной интерстициальной пневмонии

© Е.А. КОГАН, В.А. ВАРШАВСКИЙ, Е.Е. ШЕЛОКОВА, Н.В. ЧИЧКОВА, Е.В. ФОМИНЫХ, В.А. ОСАДЧАЯ, В.В. ФОМИН

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

### РЕЗЮМЕ

Аденокарцинома легкого, развивающаяся на фоне идиопатического легочного фиброза (ИЛФ), по данным мировой литературы, составляет от 2,7 до 48%, частота возникновения увеличивается с каждым годом после постановки диагноза ИЛФ. Представляем клинико-морфологический анализ аутопсийного наблюдения аденокарциномы легкого, развившейся на фоне ИЛФ, леченного глюкокортикостероидами, у женщины 78 лет. По результатам гистологического и иммуногистохимического исследования был сформулирован диагноз: мультицентрическая немучинозная инвазивная аденокарцинома правого и левого легких со стелющимся характером роста на фоне обычной интерстициальной пневмонии.

**Ключевые слова:** мультицентрическая немучинозная инвазивная аденокарцинома, стелющийся характер роста, обычная интерстициальная пневмония.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Коган Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>  
Варшавский В.А. — <https://orcid.org/0000-0002-5855-3092>  
Шелокова Е.Е. — <https://orcid.org/0000-0002-5030-0429>  
Чичкова Н.В. — <https://orcid.org/0000-0002-6962-3260>  
Фоминых Е.В. — <https://orcid.org/0000-0003-3733-4481>  
Осадчая В.А. — <https://orcid.org/0000-0001-6374-6457>  
Фомин В.В. — <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>  
**Автор, ответственный за переписку:** Шелокова Е.Е. — e-mail: [shchelokova.ee@yandex.ru](mailto:shchelokova.ee@yandex.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Коган Е.А., Варшавский В.А., Шелокова Е.Е., Чичкова Н.В., Фоминых Е.В., Осадчая В.А., Фомин В.В. Аденокарцинома легкого на фоне обычной интерстициальной пневмонии. *Архив патологии*. 2022;84(5):35–39. <https://doi.org/10.17116/patol20228405135>

## Adenocarcinoma of the lung against the background of usual interstitial pneumonia

© Е.А. КОГАН, В.А. ВАРШАВСКИЙ, Е.Е. ШЕЛОКОВА, Н.В. ЧИЧКОВА, Е.В. ФОМИНЫХ, В.А. ОСАДЧАЯ, В.В. ФОМИН

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

### ABSTRACT

Lung adenocarcinoma against the background of idiopathic pulmonary fibrosis according to the world literature ranges from 2.7% to 48%, the incidence increases every year after the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. We present a clinical and morphological analysis of an autopsy observation of lung adenocarcinoma that developed against the background of corticosteroid-treated usual interstitial pneumonia in a 78-year-old woman. According to the results of histological and immunohistochemical studies, the diagnosis was formulated as: multicentric non-mucinous invasive adenocarcinoma of the right and left lungs with a lepidic growth pattern with background of usual interstitial pneumonia.

**Keywords:** multicentric non-mucinous invasive adenocarcinoma, lepidic growth pattern, usual interstitial pneumonia.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Коган Е.А. — <https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>  
Varshavsky V.A. — <https://orcid.org/0000-0002-5855-3092>  
Shchelokova E.E. — <https://orcid.org/0000-0002-5030-0429>  
Chichkova N.V. — <https://orcid.org/0000-0002-6962-3260>  
Fominykh E.V. — <https://orcid.org/0000-0003-3733-4481>  
Osadchaya V.A. — <https://orcid.org/0000-0001-6374-6457>  
Fomin V.V. — <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>  
**Corresponding author:** Shchelokova E.E. — e-mail: [shchelokova.ee@yandex.ru](mailto:shchelokova.ee@yandex.ru)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Kogan EA, Varshavsky VA, Shchelokova EE, Chichkova NV, Fominykh EV, Osadchaya VA, Fomin VV. Adenocarcinoma of the lung against the background of usual interstitial pneumonia. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):35–39. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405135>

Сочетание аденокарциномы легкого и легочного фиброза, по данным разных авторов, составляет от 2,7 до 48%. Частота возникновения увеличивается с каждым годом после постановки диагноза идиопатического легочного фиброза (ИЛФ) [1, 2]. Представляем клинико-морфологический анализ аутопсийного наблюдения аденокарциномы легкого, развившейся на фоне ИЛФ.

В клинику поступила пациентка 78 лет с жалобами на выраженную одышку, сухой кашель, слабость, лихорадку до 38 °С. Из анамнеза известно, что в 2005 г. впервые появились жалобы на слабость, артралгии, плотный отек кожи рук и нарушение глотания. Тогда же предположительно был поставлен диагноз перекрестного синдрома системного склероза и полимиозита. В течение года проводилась терапия с использованием системных глюкокортикостероидов (ГКС) и метотрексата с дальнейшей постепенной отменой препаратов и полным разрешением клинической симптоматики и нормализацией лабораторных показателей.

Ухудшение состояния произошло в марте 2019 г. после переохлаждения, когда появились лихорадка, сухой кашель и одышка. При поступлении в клинику состояние больной тяжелое, выражены признаки дыхательной недостаточности. При МСКТ определялись двусторонние очагово-инфильтративные сливные изменения (рис. 1) без лимфаденопатии, при исследовании функции внешнего дыхания отмечены выраженные рестриктивные изменения. Резуль-



Рис. 1. МСКТ легких — аксиальный срез.

В язычковых сегментах левого легкого, во 2-м и 6-м сегментах правого легкого определяются множественные округлые очаги. Справа очаги имеют тенденцию к слиянию с образованием зон консолидации неоднородной структуры. В нижних долях обоих легких и в 4-м сегменте слева зоны повышения плотности по типу матового стекла без четких границ и утолщение внутримального интерстиция (больше справа). В 6-м сегменте слева паравертебрально определяется зона консолидации неоднородной структуры с воздушной бронхограммой и единичными вздутыми дольками.

Fig. 1. MSCT of the lungs — axial section.

In the reed segments of the left lung, in the 2th and 6th segments of the right lung, multiple rounded foci are determined. On the right, the foci tend to merge with the formation of zones of consolidation of a heterogeneous structure. In the lower lobes of both lungs and in the 4th segment on the left, there are areas of increased density like ground glass without clear boundaries and thickening of the intralobular interstitium (more on the right). In the 6th segment of the left lung, a zone of consolidation of a heterogeneous structure with an air bronchogram and single inflated lobules is determined paravertebral.

таты лабораторных исследований: признаки системного воспалительного ответа, а также высокий уровень антител к цитоплазматическому антигену SS-A(RO) расценены как проявления ранее перенесенного синдрома перекреста (системная склеродермия/полимиозит). Полученные данные не позволяли исключить поражение легких в рамках системных заболеваний соединительной ткани, а также интерстициальные заболевания легких. Четких данных, подтверждающих наличие новообразования, бактериальной и специфической инфекции, не получено. Проводилась пульс-терапия метилпреднизолоном внутривенно с последующим назначением метипреда перорально. Достигнут краткосрочный положительный эффект. В дальнейшем состояние пациентки ухудшилось, нарастала дыхательная недостаточность и появились лабораторные признаки системного воспалительного ответа. При МСКТ установлена отрицательная динамика: увеличение зон консолидации, резкое утолщение интерстиция и снижение воздушности легочной ткани. Несмотря на проводимые лечебные мероприятия, состояние пациентки прогрессивно ухудшалось, через 45 дней после госпитализации на фоне прогрессирующей дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности она умерла.

### Заключительный клинический диагноз

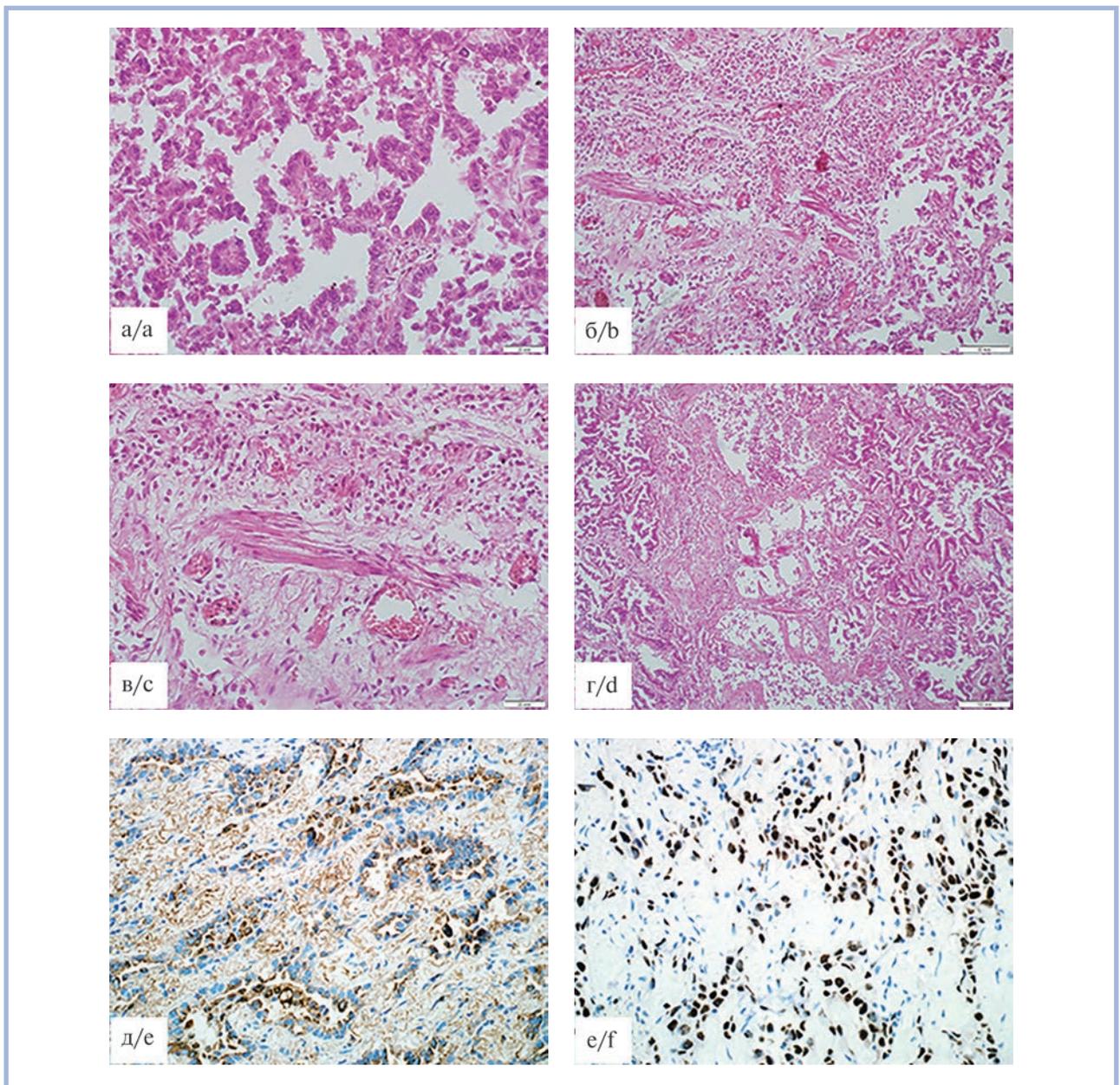
Основной: J96.0. Конкурирующие заболевания: 1) хроническое интерстициальное заболевание легких: криптогенная организуемая пневмония, леченная ГКС; 2) злокачественное новообразование бронхов или легких, выходящее за пределы одной доли и более.

Осложнения. Полисегментарная пневмония тяжелого течения. Дыхательная недостаточность III степени. Продленная неинвазивная ИВЛ. Продленная ИВЛ. Инфаркт миокарда 2-го типа без зубца Q неуточненной локализации от 17.06.19. Нарушения ритма и проводимости сердца: тахисистолическая форма фибрилляции предсердий, частая желудочковая экстрасистолия, АВ-блокада I степе-



Рис. 2. Нижняя доля правого легкого с опухолью, вблизи опухоли фиброзные тяжи и склерозированные сосуды.

Fig. 2. The lower lobe of the right lung with a tumor, nearby there are areas of fibrous cords and sclerotic vessels.



**Рис. 3.** Микроскопическое и иммуногистохимическое исследование ткани легкого с опухолью.

а — немucinозная аденокарцинома легкого со стелющимся характером роста и формированием сосочковых структур; б — инвазия опухоли в интерстиций легкого с признаками обычной интерстициальной пневмонии; в — зона обычной интерстициальной пневмонии с миофибробластическим фокусом и лимфоидно-плазмочитарной инфильтрацией; г — остатки «сотовых» структур с опухолевыми клетками и прилежащий миофибробластический фокус; д — МСК AE1/AE3 в раковых клетках тубулярных структур опухоли; е — TTF1 в ядрах клеток опухоли в зонах со стелющимся ростом; а — г — окраска гематоксилином и эозином; д, е — иммунопероксидазная реакция.

**Fig. 3.** Microscopic and immunohistochemical examination of lung tissue with a tumor.

а — non-mucinous adenocarcinoma of the lung with a lepidic growth pattern and the formation of papillary structures; б — invasion of the tumor into the interstitium of the lung with signs of usual interstitial pneumonia; в — area of usual interstitial pneumonia with myofibroblastic focus and lymphoid-plasmacytic infiltration; д — remnants of «honeycomb» structures with tumor cells and an adjacent myofibroblastic focus; е — MCK AE1/AE3 in cancer cells of tumor tubular structures; ф — TTF1 in the nuclei of tumor cells in areas with lepidic growth; а — д — H&E stain; е, ф — immunoperoxidase reaction.

ни, переходящая БПНПГ, асистолия. Острая левожелудочковая недостаточность (Killip IV стадии). Легочная гипертензия средней тяжести. Антибиотикоассоциированный энтероколит, вызванный *Cl. difficile*. Сосудистое расстройство с эпизодами спутанности сознания. Реанимационные

мероприятия: непрямой массаж сердца, катетеризация правой подключичной вены, катетеризация мочевого пузыря.

Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II стадии, 2-й степени, риск ССО 3. Атеросклероз аорты, коронарных, мозговых артерий. Гастроэзофагеальная реф-

люксовая болезнь: грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, рефлюкс-эзофагит. Хронический бронхит. Узловой зоб. Кисты почек. Фиброзно-кистозная мастопатия. Коксартроз. Overlap-синдром: системная склеродермия/полимиозит, леченный ГКС (в анамнезе).

На вскрытии легкие красно-бурого цвета с явлениями отека. В верхней доле левого легкого в S<sub>III</sub> и нижней доле правого легкого в S<sub>IX-X</sub> пальпаторно определялись субплеврально расположенные зоны выраженного уплотнения легочной ткани. На разрезе в соответствующих локализациях участки сероватого цвета плотноэластической консистенции с фестончатыми краями размером около 3×3 см каждый (рис. 2). В окружающей ткани обращали на себя внимание белесоватые фиброзные тяжи, пронизывающие ткань легкого в большей степени в периферических участках, склерозированные стенки сосудов, местами отмечалось наличие многочисленных сероватых эластичных очагов небольших размеров без четких границ. В нижних долях обоих легких снижение воздушности легочной ткани, плотноватая их консистенция, наличие гнойного экссудата в просветах мелких бронхов. При исследовании других органов обнаруженные изменения были неспецифическими: головной мозг с явлениями отека; коронарные артерии с наличием бляшек, суживающих просвет до 25%; признаки хронического венозного полнокровия — мускатная печень, цианотическая индукция селезенки.

При микроскопическом исследовании ткани легкого в участках, граничащих с зонами фиброза, обнаружена немучинозная инвазивная аденокарцинома (рис. 3, а). Опухоль со стелющимся характером роста, что подразумевает распространение вдоль альвеолярных перегородок столбчатых эпителиальных клеток, напоминающих пневмоциты II порядка с явлениями умеренной/выраженной цитологической атипии. В зонах инвазивного роста отмечалось формирование сосочковых и тубулярных структур опухоли. Местами опухолевые клетки располагались в альвеолярных пространствах, в том числе в предсуществующих «сотовых» структурах легкого, характерных для гистологического паттерна обычной интерстициальной пневмонии (рис. 3, б). Наряду с «сотовыми» структурами выявлялись типичные миофибробластические фокусы, состоящие из рыхлой миксоидной стромы с наличием фибробластов, групп миофибробластов и лимфоидно-плазмодитарных клеток (рис. 3, в, г). В очагах фиброза и стенках «сотовых» структур определялись участки гиперплазированных гладкомышечных элементов. Местами присутствовал феномен «временной неоднородности» — на фоне зрелого фиброза очаги более молодой соединительной ткани. Лимфоидно-плазмодитарная инфильтрация выражена незначительно в виде рассеянных очагов. Иммуногистохимическое исследование подтвердило железистую дифференцировку опухоли с экспрессией TTF-1 (Leica, Clone SPT24) и MCK AE1/AE3 (Leica, Clone AE1 and AE3) (рис. 3, д, е).

На основании данных вскрытия поставлен диагноз: мультицентрическая немучинозная инвазивная аденокарцинома правого и левого легких со стелющимся характером роста на фоне обычной интерстициальной пневмонии.

## Патолого-анатомический диагноз

Основное заболевание: стелющаяся аденокарцинома с поражением III сегмента левого и IX—X сегмента правого легкого.

Фоновое заболевание: обычная интерстициальная пневмония, леченная ГКС.

Осложнения: хронический гнойный бронхит; псевдомембранозный колит (клинически, исследование кала на токсин *V. Cl. difficile* от 14/06/19 — результат положительный). Хроническое венозное полнокровие внутренних органов: мускатная печень, цианотическая индукция селезенки. Отек легких. Отек головного мозга.

Реанимационные мероприятия: непрямой массаж сердца, катетеризация правой подключичной вены и мочевого пузыря.

Сопутствующие заболевания: атеросклероз аорты (IV стадия, 3-я степень), коронарных артерий (II стадия, 2—3-я степень, стеноз просвета всех артерий на 25%). Фиброзно-кистозная болезнь молочной железы.

## Обсуждение

Вопросы патогенетической взаимосвязи обычной интерстициальной пневмонии и аденокарциномы легкого остаются не до конца изученными. Рядом исследователей [2—4, 5] получены доказательства возможной злокачественной трансформации тканевой стволовой клетки легочной ткани, ниша которой располагается в зоне бронхиолоальвеолярного перехода, при нарастающем фиброзе. Активация стволовых клеток необходима для реализации репарации поврежденной ткани. Однако в условиях многократно повторяющегося повреждающего воздействия процессы репарации приобретают патологический характер и, начинаясь от формирования миофибробластических фокусов, способствуют развитию интерстициального фиброза с накоплением генетических и эпигенетических перестроек в нормальной стволовой клетке и сенесцентных фибробластических элементах этой зоны [1]. Подобная трансформация в конечном итоге может служить основой для возникновения раковой стволовой клетки с последующим запуском механизмов канцерогенеза, приводящего к развитию злокачественной опухоли [3, 4, 6, 7].

## Заключение

Анализируемое в работе наблюдение подтверждает патогенетическое значение ИЛФ в развитии аденокарциномы легкого. Ведущим фактором канцерогенеза здесь является поражение зоны бронхиолоальвеолярного перехода. Кроме того, длительная терапия ГКС в анамнезе, приводящая к иммунодефициту в условиях дефектного иммунного ответа у пациента с интерстициальным поражением легких при системном заболевании соединительной ткани, также может способствовать развитию опухоли.

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ballester B, Milara J, Cortijo J. Idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer: mechanisms and molecular targets. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):593. <https://doi.org/10.3390/ijms20030593>
2. Коган Е.А., Корнев Б.М., Шукурова Р.А. Идиопатический фиброзирующий альвеолит и бронхиолоальвеолярный рак. *Архив патологии.* 1991;53(1):60-64. Kogan EA, Kornev BM, Shukurova RA. Idiopathic fibro-ziruiyushhii al'veolit i bronkhioloal'veolyarnyi rak. *Arkhiv patologii.* 1991;53(1):60-64. (In Russ.).
3. Демура С.А., Коган Е.А., Горячкина В.Л. Хронические заболевания, предрак и рак легких, ассоциированные с патологией булавовидных клеток респираторных и терминальных бронхиол. *Архив патологии.* 2018;80(5):63-68. Demura SA, Kogan EA, Goryachkina VL. Khronicheskie zabolevaniya, predrak i rak legkikh, assotsiirovannye s patologiei bulavovidnykh kletok respiratornykh i terminal'nykh bronkhiol. *Arkhiv patologii.* 2018;80(5):63-68. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20188005163>
4. Демура С.А., Коган Е.А., Пауков В.С. Морфология и молекулярные основы повреждения ниши стволовых клеток респираторного ацинуса при идиопатических интерстициальных пневмониях. *Архив патологии.* 2014;76(6):28-36. Demura SA, Kogan EA, Paukov VS. Morfologiya i molekulyarnye osnovy povrezhdeniya nishi stvolovykh kletok respiratornogo atsinusa pri idiopaticeskikh interstitsial'nykh pnevmoniyakh. *Arkhiv patologii.* 2014;76(6):28-36. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol201476628-36>
5. Averyanov A, Kogan E, Lesnyak V, Stepanyan I, Danilevskaya O. Idiopathic interstitial pneumonias. Ch. 2. In: Averyanov A., ed. *Difficult to diagnose rare diffuse lung disease.* Academic Press; 2019;29-140. <https://www.elsevier.com/books/difficult-to-diagnose-rare-diffuse-lung-disease/averyanov/978-0-12-815375-8>
6. WHO Classification of Tumours. *Thoracic tumours.* WHO classification of tumours editorial board. 5<sup>th</sup> ed. Vol. 5. France, Lyon: IARC; 2021. <https://tumourclassification.iarc.who.int>
7. Hasleton PS, Flieder DB, eds. *Spencer's pathology of the lung.* 6th ed. Cambridge University Press; 2013;vol. 1-2. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139018760>

Поступила 24.04.2022

Received 24.04.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Новый тип слияния генов *BRAF::EPB41L2* в пилоидной астроцитоме задней черепной ямки. Краткое сообщение

© М.В. РЫЖОВА<sup>1</sup>, Е.Г. ШАЙХАЕВ<sup>1</sup>, Г.П. СНИГИРЕВА<sup>1</sup>, С.К. ГОРЕЛЫШЕВ<sup>1</sup>, О.Г. ЖЕЛУДКОВА<sup>2</sup>, А.В. ГОЛАНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Москвы «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Выявление определенных нарушений в опухолях (как правило, это мутации или слияния генов) позволяет назначать таргетные препараты второй линии терапии или в некоторых случаях при неоперабельных опухолях наблюдать не только постепенный частичный ответ опухоли на лечение, но и вывод этих пациентов из категории инкурабельных. В статье авторы рассказывают о новом редком типе слияния генов *BRAF::EPB41L2*, выявленном в пилоидной астроцитоме, развившейся в задней черепной ямке у 11-летнего мальчика.

**Ключевые слова:** слияние *BRAF::K1AA*, ДНК-зонд *BRAF*, слияние *BRAF::EPB41L2*.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

Шайхаев Е.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-7882-2579>

Снигирева Г.П. — <https://orcid.org/0000-0002-2584-802X>

Горелышев С.К. — <https://orcid.org/0000-0003-0984-2039>

Желудкова О.Г. — <https://orcid.org/0000-0002-8607-3635>

Голанов А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-0976-4547>

**Автор, ответственный за переписку:** Рыжова М.В. — e-mail: [mrizhova@nsi.ru](mailto:mrizhova@nsi.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Рыжова М.В., Шайхаев Е.Г., Снигирева Г.П., Горелышев С.К., Желудкова О.Г., Голанов А.В. Новый тип слияния генов *BRAF::EPB41L2* в пилоидной астроцитоме задней черепной ямки. Краткое сообщение. *Архив патологии*. 2022;84(5):40–42. <https://doi.org/10.17116/patol20228405140>

## Novel *BRAF::EPB41L2* gene fusion in posterior fossa pilocytic astrocytoma. Brief communication

© M.V. RYZHOVA<sup>1</sup>, E.G. SHAIKHAEV<sup>1</sup>, G.P. SNIGIREVA<sup>1</sup>, S.K. GORELYSHEV<sup>1</sup>, O.G. ZHELUDKOVA<sup>2</sup>, A.V. GOLANOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Burdenko Neurosurgical Center, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>V.F. Voyno-Yasensky Scientific and Practical Center of Specialized Medical Care for Children, Moscow, Russia

### ABSTRACT

Identification of specific alterations in tumors (as a rule, these are mutations or gene fusions) makes it possible to prescribe targeted drugs of the second line of therapy or, in some cases of inoperable tumors, to observe not only a gradual partial response of the tumor to treatment, but also the removal of these patients from the category of incurable ones. The article describes a new rare type of *BRAF::EPB41L2* gene fusion detected in a piloid astrocytoma that developed in the posterior cranial fossa in an 11-year-old boy.

**Keywords:** *BRAF::K1AA* gene fusions, *BRAF* FISH probe, *BRAF::EPB41L2* gene fusions.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

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

Shaikhaev E.G. — <https://orcid.org/0000-0002-7882-2579>

Snigireva G.P. — <https://orcid.org/0000-0002-2584-802X>

Gorelyshev S.K. — <https://orcid.org/0000-0003-0984-2039>

Zheludkova O.G. — <https://orcid.org/0000-0002-8607-3635>

Golanov A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-0976-4547>

**Corresponding author:** Ryzhova M.V. — e-mail: [mrizhova@nsi.ru](mailto:mrizhova@nsi.ru)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Ryzhova MV, Shaikhaev EG, Snigireva GP, Gorelyshev SK, Zheludkova OG, Golanov AV. Novel *BRAF::EPB41L2* gene fusion in posterior fossa pilocytic astrocytoma. Brief communication. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):40–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405140>

Пилоидная астроцитома — опухоль астроцитарного происхождения с различными пропорциями биполярных волосовидных (пилоидных) клеток и миксоидных полей, волокон Розенталя и эозинофильных гранулярных телец. Пилоидная астроцитома связана с нарушениями MAPK-сигнального пути, наиболее частым из которых является слияние генов *BRAF::KIAA* [1—3].

Типичными и часто встречающимися видами слияния генов *BRAF::KIAA* являются слияния между 16-м и 9-м, 15-м и 9-м и 16-м и 11-м экзонами этих генов, однако в эру РНК-секвенирования почти ежедневно мы узнаем о вновь открываемых слияниях генов [4], часть из которых становится основой для таргетной терапии [5, 6].

Приводим собственное наблюдение.

Мальчик 11 лет был оперирован в НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко по поводу опухоли IV желудочка с инфильтрацией ствола головного мозга, проведено парциальное удаление новообразования, гистологически диагностирована пилоидная астроцитома. По запросу онколога для оценки возможности назначения таргетной терапии ингибиторами BRAF дополнительно были исследованы мутационный статус гена *BRAF* (выявлен дикий тип гена, мутации не выявлено) и слияние генов *BRAF::KIAA*.

Изучение возможных слияний гена *BRAF* проводилось параллельно методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе QuantStudio 5 Applied Biosystem с анализом результатов, для чего использовали программы QuantStudio™ Design & Analysis Software v1.4.3/v1.5.1 и флуоресцентную гибридизацию *in situ* с пробой (ДНК-зондом) BRAF Break Apart FISH («CytoTest») в гибридизационной камере Hybridizer DAKO. Полученные результаты оценены под флуоресцентным микроскопом Zeiss Axio Imager A2 с помощью программы Isis.

ПЦР не обнаружила обычных слияний генов *BRAF::KIAA* между 16-м и 9-м, 15-м и 9-м и 16-м и 11-м экзонами (рис. 1), в то время как при флуоресцентной гибридизации *in situ* с пробой BRAF Break Apart FISH («CytoTest») были выявле-

ны добавочные зеленые сигналы (рис. 2). Добавочные зеленые сигналы свидетельствуют о структурной перестройке — слиянии генов *BRAF::KIAA* (или гена *BRAF* с другим партнером), которое возникает в результате дупликации гена *BRAF* на участке 7q34 и последующего слияния его 3'-конца в районе MAPK-активирующего домена с 5'-концевым фрагментом гена *KIAA*. Образцы классифицируются как положительные для выявления перестроек в гене *BRAF*, если сигналы тандемного дублирования наблюдаются в 15% опухолевых клетках и более.

Получив подобные результаты исследований, мы решили проверить наличие возможного слияния методом таргетного панельного высокопроизводительного секвенирования на специально разработанной и созданной для нашей лаборатории панели генов для выявления мутаций генов (*ACVR1, AKT1, APC, ATRX, BCOR, BCORL1, BRAF, CDK6, SUFU, TERT, TP53, CDKN2A, CDKN2B, CIC, CTNNA1, DDX3X, EGFR, FGFR2, FGFR3, FUBP1, GNAQ, H3F3A, HIST1H3B, HIST1H3C, IDH1, IDH2, KDM6A, KLF4, KRAS, MLH1, MSH2, MSH6, MYB, MYBL1, MYC, MYCN, NF1, NF2, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PTCH1, PTCH2, PTEN, PTPN11, RAF1, RB1, SETD2, SMARCA4, SMARCB1, SMO, TERT, TP53, VHL*); *EGFRv3* (делеции со 2-го по 7-й экзон) и вставка *BCOR* (internal tandem duplication)) и на следующей панели для выявления слияний генов (*KIAA1549::BRAF, AFAP1::NTRK2, AGL4::NTRK2, ATG7::RAF1, BCAN::NTRK1, BTBD1::NTRK3, c11orf95::RELA, C8orf34::MYBL1, CLIP2::MET, ETV6::NTRK3, EWSR1::PATZ, FGFR1::TACC1, FGFR3::TACC3, FYCO1::RAF1, JPX::FOXR2, LOC550643::FOXR2, MNI::BEND2, MNI::CXXC5, MYB::ESR1, MYBL1::MMP16, MYB::PCDHGA1, MYB::QKI, NAB2::STAT6, NACC2::NTRK2, NAV1::NTRK2, NFASC::NTRK1, PTPRZ1::MET, QKI::NTRK2, QKI::RAF1, SRGAP3::RAF1, TFG::MET, TPM3::NTRK1, VCL::NTRK2, YAP1::MAMLD1, FAM131B::BRAF*).

Анализ результатов проведен с помощью программы Clc Genomics workbench Qiagen.

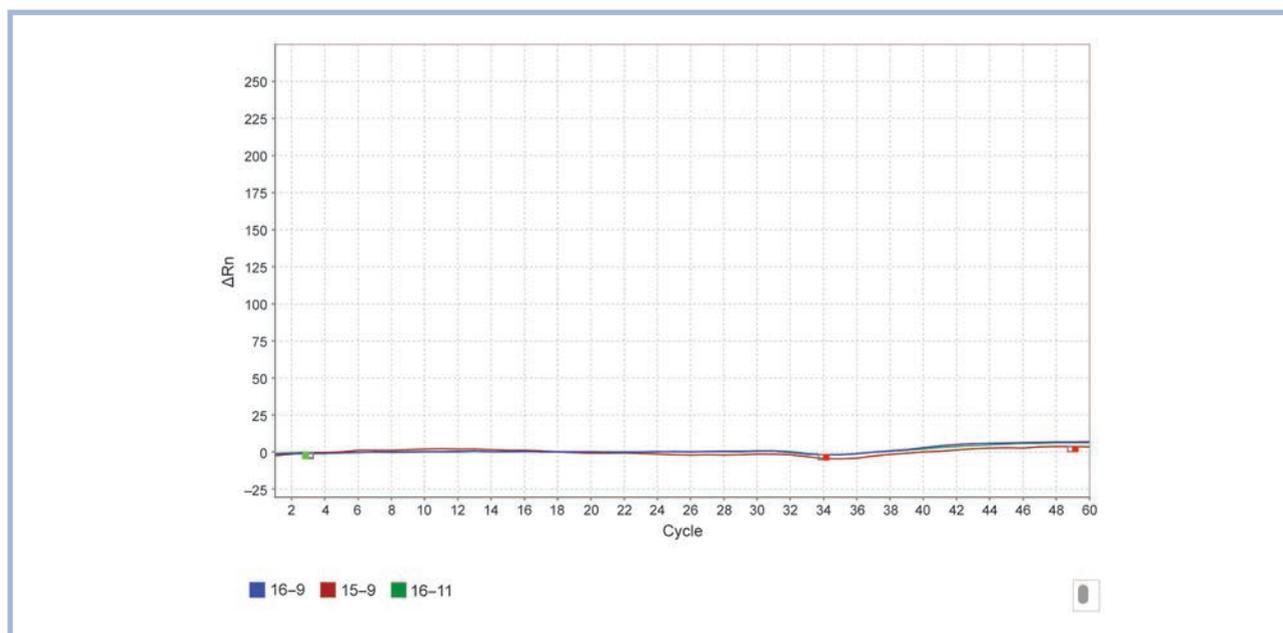


Рис. 1. Отсутствие слияний *BRAF::KIAA* в 16-м и 9-м, 15-м и 9-м и 16-м и 11-м экзонах.

Fig. 1. Absence of *BRAF::KIAA* fusions in exons 16 and 9, 15 and 9, and 16 and 11.

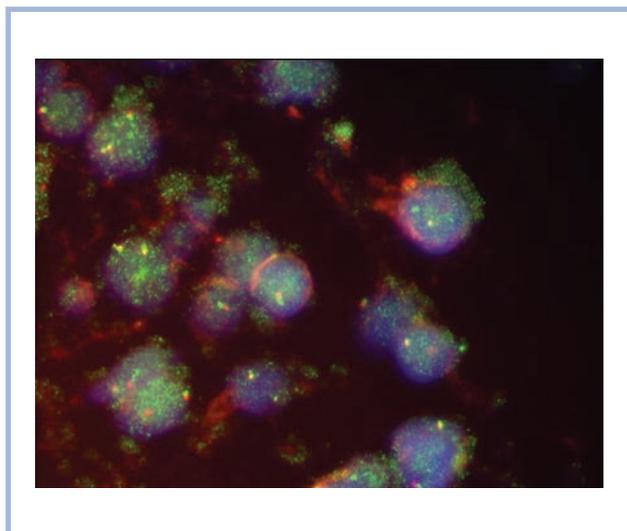


Рис. 2. Добавочный зеленый сигнал *BRAF* — признак слияния.

Fig. 2. An additional green *BRAF* signal is a sign of a fusion.

В результате выполненного панельного секвенирования удалось впервые выявить редкий тип слияния генов *BRAF::EPB41L2* в пилоидной астроцитоме задней черепной ямки, и хотя ген *EPB41L2* отсутствует в нашей панели, программа сама смогла выявить партнера слияния (рис. 3). Проанализировав данные литературы, мы смогли найти лишь единичную ссылку на данное слияние *BRAF::EPB41L2*, установленное в веретенклеточной саркоме мягких тканей головы [7].

Выявление слияний гена *BRAF* является показанием к назначению таргетной терапии и, по всей вероятности, должно применяться более широко в рутинной практике. При этом нельзя останавливаться только на использовании ПЦР (при отсутствии конкретных типичных слияний), а применять также методы FISH- и/или РНК-секвенирования — NGS.

Авторы сердечно благодарят Благотворительные фонды Константина Хабенского и «Подари Жизнь» за помощь в финансировании исследований по РНК-секвенированию и FISH-анализу опухолей ЦНС.

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

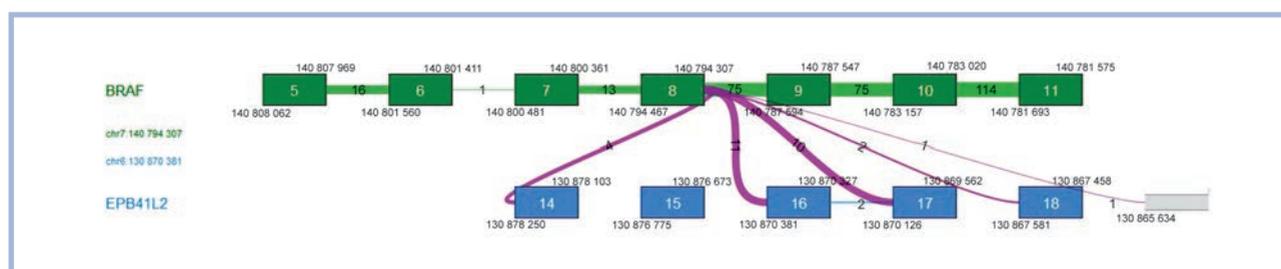


Рис. 3. Слияние генов *BRAF::EPB41L2*.

Fig. 3. *BRAF::EPB41L2* gene fusion.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. WHO Classification of Tumours. Central nervous system tumours. WHO Classification of Tumours Editorial Board. 5th ed. Vol. 6. France, Lyon: IA RC; 2021. <https://publications.iarc.fr/601>
2. Jones DTW, Kocialkowski S, Liu L, Pearson DM, Backlund LM, Ichimura K, Collins VP. Tandem duplication producing a novel oncogenic *BRAF* fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res.* 2008;68(21):8673-8677. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2097>
3. Jones DTW, Kocialkowski S, Liu L, Pearson DM, Ichimura K, Collins VP. Oncogenic *RAF1* rearrangement and a novel *BRAF* mutation as alternatives to *KIAA1549::BRAF* fusion in activating the *MAPK* pathway in pilocytic astrocytoma. *Oncogene.* 2009;28(20):2119-2123. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.73>
4. Roosen M, Odé Z, Bunt J, Kool M. The oncogenic fusion landscape in pediatric CNS neoplasms. *Acta Neuropathol.* 2022;143(4):427-451. <https://doi.org/10.1007/s00401-022-02405-8>
5. Peeters SM, Muftuoglu Y, Na B, Daniels DJ, Wang AC. Pediatric gliomas: molecular landscape and emerging targets. *Neurosurg Clin N Am.* 2021;32(2):181-190. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2020.12.001>
6. Behling F, Schittenhelm J. Oncogenic *BRAF* alterations and their role in brain tumors. *Cancers (Basel).* 2019;11(6):794. <https://doi.org/10.3390/cancers11060794>
7. Penning AJ, Al-Ibraheemi A, Michal M, Larsen BT, Cho SJ, Lockwood CM, Paulson VA, Liu YJ, Plank L, Fritchie K, et al. Novel *BRAF* gene fusions and activating point mutations in spindle cell sarcomas with histologic overlap with infantile fibrosarcoma. *Mod Pathol.* 2021;34(8):1530-1540. <https://doi.org/10.1038/s41379-021-00806-w>

Поступила 04.06.2022

Received 04.06.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## COVID-19-ассоциированный мукормикоз в офтальмологической практике Волгоградского региона

© В.В. ЕРМИЛОВ<sup>1</sup>, А.В. СМИРНОВ<sup>1,2</sup>, Н.А. ДОРОФЕЕВ<sup>1,2</sup>, Н.В. ГРИГОРЬЕВА<sup>1</sup>, Н.В. ТАРАСОВА<sup>1</sup>, П.И. КУШНИРУК<sup>1</sup>, М. КАРАДЖЕ<sup>3</sup>, В.Б. БАРКАНОВ<sup>1</sup>, О.А. ЧЕРНЕЦКИЙ<sup>4</sup>, А.Э. ПОПЛАВСКИЙ<sup>4</sup>, А.А. НЕСТЕРОВА<sup>1</sup>, В.В. ЛОЗОВИК<sup>3</sup>, В.В. СОМОВА<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», Волгоград, Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Волгоградская областная клиническая больница №1», Волгоград, Россия;

<sup>4</sup>ГБУЗ «Волгоградское областное патолого-анатомическое бюро», Волгоград, Россия

### РЕЗЮМЕ

Проблема микозов в эпоху COVID-19 приобрела особое значение. Развитию данной инфекции напрямую или косвенно способствуют применяемые при лечении новой коронавирусной инфекции глюкокортикоиды и антибиотики, а также недостаточный самоконтроль за хроническими заболеваниями — все эти обстоятельства являются факторами риска грибковых заболеваний. Представлено 2 наблюдения COVID-19-ассоциированного микоза, в большей степени относящегося к мукормикозу, которые были диагностированы офтальмологами Волгоградской области. В первом случае тяжелое течение риноорбитоцеребральной формы мукормикоза потребовало ряда хирургических вмешательств и продолжительного лечения в реанимационном отделении. Во втором — пациент обратился за помощью без признаков утяжеления общего состояния, однако с необратимыми местными проявлениями. В обоих случаях было удалено глазное яблоко. При морфологическом исследовании обнаружены асептальные ленточные гифы разного диаметра, ветвящиеся преимущественно под прямым углом, более характерные для грибов семейства *Mucorales*. В связи с тяжелыми последствиями заболевания врачам-клиницистам, в том числе офтальмологам, необходимо иметь особую настороженность в отношении пациентов с описанными симптомами и факторами риска в постковидном периоде.

**Ключевые слова:** COVID-19, постковидный синдром, микозы, мукормикоз, офтальмология.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Ермилов В.В. — <https://orcid.org/0000-0002-3840-839X>

Смирнов А.В. — <https://orcid.org/0000-0001-5351-6105>

Дорофеев Н.А. — <https://orcid.org/0000-0003-2679-7524>

Григорьева Н.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7544-0711>

Тарасова Н.В. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)

Кушнирук П.И. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)

Карадже М. — e-mail: [vokb1@volganet.ru](mailto:vokb1@volganet.ru)

Барканов В.Б. — <https://orcid.org/0000-0002-8549-9087>

Чернецкий О.А. — e-mail: [cherneczkij67@mail.ru](mailto:cherneczkij67@mail.ru)

Поплавский А.Э. — <https://orcid.org/0000-0002-8267-6180>

Нестерова А.А. — <https://orcid.org/0000-0002-0982-639X>

Лозовик В.В. — e-mail: [vokb1@volganet.ru](mailto:vokb1@volganet.ru)

Сомова В.В. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)

**Автор, ответственный за переписку:** Дорофеев Н.А. — e-mail: [dorofeev.na@mail.ru](mailto:dorofeev.na@mail.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ермилов В.В., Смирнов А.В., Дорофеев Н.А., Григорьева Н.В., Тарасова Н.В., Кушнирук П.И., Карадже М., Барканов В.Б., Чернецкий О.А., Поплавский А.Э., Нестерова А.А., Лозовик В.В., Сомова В.В. COVID-19-ассоциированный мукормикоз в офтальмологической практике Волгоградского региона. *Архив патологии*. 2022;84(5):43–49. <https://doi.org/10.17116/patol20228405143>

## COVID-19-associated mucormycosis in ophthalmological practice in the Volgograd region

© V.V. ERMILOV<sup>1</sup>, A.V. SMIRNOV<sup>1,2</sup>, N.A. DOROFEEV<sup>1,2</sup>, N.V. GRIGOR'EVA<sup>1</sup>, N.V. TARASOVA<sup>1</sup>, P.I. KUSHNIRUK<sup>1</sup>, M. KARADZHE<sup>3</sup>, V.B. BARKANOV<sup>1</sup>, O.A. CHERNETSKY<sup>4</sup>, A.E. POPLAVSKY<sup>4</sup>, A.A. NESTEROVA<sup>1</sup>, V.V. LOZOVIK<sup>3</sup>, V.V. SOMOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia;

<sup>2</sup>Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia;

<sup>3</sup>Volgograd Regional Clinical Hospital No. 1, Volgograd, Russia;

<sup>4</sup>Volgograd Regional Pathological Bureau, Volgograd, Russia

### ABSTRACT

The problem of fungal infections in the era of COVID-19 has acquired special significance. This infection, directly or indirectly, through the use of glucocorticoids and antibiotics in its treatment, as well as poorer self-management of chronic diseases, has led to a wide spread of risk factors for fungal diseases among people who have had a novel coronavirus infection. The article

presents two cases of COVID-19-associated mycosis, more related to mucormycosis, which were diagnosed by ophthalmologists in the Volgograd region. In the first case, the severe course of rhino-orbito-cerebral form of mucormycosis required a number of surgical interventions and prolonged treatment in the intensive care unit. In the second case, the patient asked for help without signs of aggravation of the general condition, but with irreversible local manifestations. In both cases, the eyeball was removed. Morphological examination revealed aseptical ribbon hyphae of different diameters, branching mainly at right angles, more typical for fungi of the *Mucorales* family. Due to the severe consequences of the disease, clinicians, including ophthalmologists, need to be especially alertness in patients with the described symptoms and risk factors in the post-COVID period.

**Keywords:** COVID-19, post-covid syndrome, mycoses, mucormycosis, ophthalmology.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Ermilov V.V. — <https://orcid.org/0000-0002-3840-839X>  
Smirnov A.V. — <https://orcid.org/0000-0001-5351-6105>  
Dorofeev N.A. — <https://orcid.org/0000-0003-2679-7524>  
Grigor'eva N.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7544-0711>  
Tarasova N.V. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)  
Kushniruk P.I. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)  
Karadzhe M. — e-mail: [vokb1@volganet.ru](mailto:vokb1@volganet.ru)  
Barkanov V.B. — <https://orcid.org/0000-0002-8549-9087>  
Chernetsky O.A. — e-mail: [cherneczki67@mail.ru](mailto:cherneczki67@mail.ru)  
Poplavsky A.E. — <https://orcid.org/0000-0002-8267-6180>  
Nesterova A.A. — <https://orcid.org/0000-0002-0982-639X>  
Lozovik V.V. — e-mail: [vokb1@volganet.ru](mailto:vokb1@volganet.ru)  
Somova V.V. — e-mail: [post@volgmed.ru](mailto:post@volgmed.ru)  
**Corresponding author:** Dorofeev N.A. — e-mail: [dorofeev.na@mail.ru](mailto:dorofeev.na@mail.ru)

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Ermilov VV, Smirnov AV, Dorofeev NA, Grigor'eva NV, Tarasova NV, Kushniruk PI, Karadzhe M, Barkanov VB, Chernetsky OA, Poplavsky AE, Nesterova AA, Lozovik VV, Somova VV. COVID-19-associated mucormycosis in ophthalmological practice in the Volgograd region. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):43–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405143>

Микозы в доковидную эпоху были известны в большей степени как дерматологическая патология либо оппортунистическая инфекция, сопутствующая той или иной форме иммунодефицита [1, 2]. Обусловлено это тем, что для заболевания, вызванного грибами, необходимо наличие предрасполагающих факторов, приводящих к невозможности эффективно противостоять возбудителю, предотвращая развитие болезни. Вместе с распространением COVID-19 по всему миру особую значимость приобрел ряд клинических ситуаций, дополнительно потенцирующих негативное влияние SARS-CoV-2 на иммунную систему организма человека, среди которых особенно отмечают применение глюкокортикостероидных (ГКС) препаратов, неконтролируемое течение сахарного диабета (СД) (особенно при развитии кетоацидоза), злокачественные новообразования и сопутствующую им иммуносупрессивную терапию [3–10]. Комбинация нескольких указанных факторов у одного пациента приводит к многократному увеличению риска развития грибковой инфекции с неблагоприятным прогнозом, что подтверждается значительным увеличением числа таких случаев в целом ряде стран [5–10].

Среди основных возбудителей микозов в контексте COVID-19 наиболее часто выделяют грибы родов *Aspergillus*, *Candida* и семейства *Mucorales*. Перечень предрасполагающих факторов может изменяться в зависимости от конкретного возбудителя. Так, например, антибактериальная терапия в большей степени ассоциирована с развитием кандидоза, а не аспергиллеза или мукормикоза. Однако даже в рамках одной нозологии ведущие факторы варьируют между разными странами, что обусловлено различиями в применяемых схемах лечения, социально-экономических условиях, демографической характеристике населения [4, 5, 9, 10].

Среди указанных нозологий более распространенными и значимыми считаются аспергиллез и кандидоз, в меньшей степени — мукормикоз, что нашло отражение во Временных методических рекомендациях «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» [4]. При этом на момент написания статьи в базах данных научной литературы имеются единичные сообщения о случаях мукормикоза в России [10]. Однако эта патология не является настолько редкой, как того можно было ожидать. Подтверждением чего являются описанные в статье случаи мукормикоза в Волгоградской области.

Цель данной работы — представление 2 случаев орбитального мукормикоза, ассоциированного с COVID-19, с анализом возможных причин развития указанной патологии у пациентов и способов ее профилактики и лечения.

#### Материал и методы

Представлено 2 случая COVID-19-ассоциированного мукормикоза в офтальмологической практике у пациентов, получавших лечение на базе ГБУЗ «Волгоградская областная клиническая больница №1». Проанализированы медицинская документация и материалы прижизненных патолого-анатомических исследований. Фиксация полученного материала, а также изготовление парафиновых блоков и гистологических микропрепаратов с окраской гематоксилином и эозином проводились по стандартной методике. Последующее изучение выполнено под световым микроскопом Axio Lab. A1 («Carl Zeiss Microscopy GmbH», Германия) с фотографированием с помощью цифровой фото/видеокамеры AxioCam 105 color («Carl Zeiss Microscopy GmbH», Германия).

## Результаты и обсуждение

Мукормикоз — заболевание, вызываемое грибами семейства *Mucorales*, наиболее часто относящимися к родам *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Mucor* и *Absidia*, широко распространенными в природе и встречающимися в разлагающемся материале и почве [4, 7, 10]. Среди коморбидных состояний, предрасполагающих к его развитию, чаще всего регистрируется СД.

Мукормикоз принято классифицировать на основании поражаемых в конкретном случае анатомических локализаций, среди которых наиболее часто встречаются рино-орбито-церебральные формы, реже — легочные, желудочно-кишечные, кожные, диссеминированные и др. [4, 5, 7, 10]. При дифференцировании мукормикоза от аспергиллеза можно опираться на различия в строении и свойствах данных грибов [4, 6, 8—11]. Представители семейства *Mucorales* имеют гипоасептальные ленточные широкие гифы разного диаметра, имеющие тенденцию ветвиться под прямым углом и обладающие выраженной ангиотропностью и способностью к ангиоинвазии, приводящей к тромбозу с окружающим некрозом. Также данные виды склонны к периневральному распространению. В противоположность этому гифы возбудителей аспергиллеза имеют большое количество перегородок и ветвятся под острым углом.

В первом случае представлена пациентка К., 61 года, с длительным анамнезом плохо контролируемого СД 2-го типа, гемитиреоидэктомией, развившейся в 2006 г. без регулярного приема L-тироксина, которая получала лечение в инфекционном стационаре по поводу COVID-19 в январе 2021 г., включая длительную терапию ГКС. На этом фоне пациентка стала отмечать боль в лицевой области, выделения гноя из правого глазного яблока с его взбуханием и из правого уха, а также слабость, однако в течение 5 мес за помощью не обращалась. Кроме того, после выписки ее начали беспокоить подъемы уровня глюкозы крови выше 20 ммоль/л.

26.05.21 поступила в оториноларингологическое отделение ГБУЗ ВОКБ №1 по направлению из поликлиники. В стационаре осмотрена отоларингологом, терапевтом, неврологом, челюстно-лицевым хирургом и офтальмологом. Согласно данным объективного обследования, пациентка находится в тяжелом состоянии и вынужденном положении, но ориентирована и в ясном сознании. При этом отмечено гипостеничное телосложение и сниженное питание. Кожа подглазничной области справа несколько отечна, отмечаются выраженный экзофтальм, хемоз и гноетечение из глаза. Пальпация и перкуссия стенок правой лобной и верхнечелюстной пазух болезненны, носовое дыхание затруднено. В правом общем носовом ходе обнаруживалось отделяемое слизисто-гнойного характера. При этом слизистая оболочка глотки и гортани не изменена, а из правого слухового прохода также отмечались слизисто-гнойные выделения, имелась перфорация барабанной перепонки в заднем верхнем квадранте на той же стороне. Неустойчивость в позе Ромберга, пациентка не выполнила указательные пробы, определялись симптомы пареза лицевого нерва справа (сглаженность носогубной складки, отставание угла рта справа, девиация языка вправо), а также положительный симптом Кернига справа и восходящая болевая реакция по нижним конечностям при проверке симптома Бабинского. Однако температура тела, пульс, артериальное давление и частота дыхательных движений находились

Таблица 1. Лабораторные данные пациентки К. при поступлении в стационар

Table 1. Laboratory data of patient K. upon admission to the hospital

Показатель	Значение	Норма
RBC (эритроциты), $10^{12}/л$	4,9	3,9—4,7
HGB (гемоглобин), г/л	117	120—140
HCT (гематокрит), %	35,7	36—42
PLT (тромбоциты), $10^9/л$	432	150—400
WBC (лейкоциты), $10^9/л$	10,4	4—9
Палочкоядерные нейтрофилы, %	9	1—6
Сегментоядерные нейтрофилы, %	61	47—72
Лимфоциты, %	24	19—37
Базофилы, %	0	0—1
Эозинофилы, %	0	0—5
Моноциты, %	6	3—11
СОЭ по Панченкову, мм/ч	54	2—15
Креатинин, мкмоль/л	127,2	58—96

в границах нормы. Выполнен общий клинический и биохимический (креатинин) анализы крови (табл. 1).

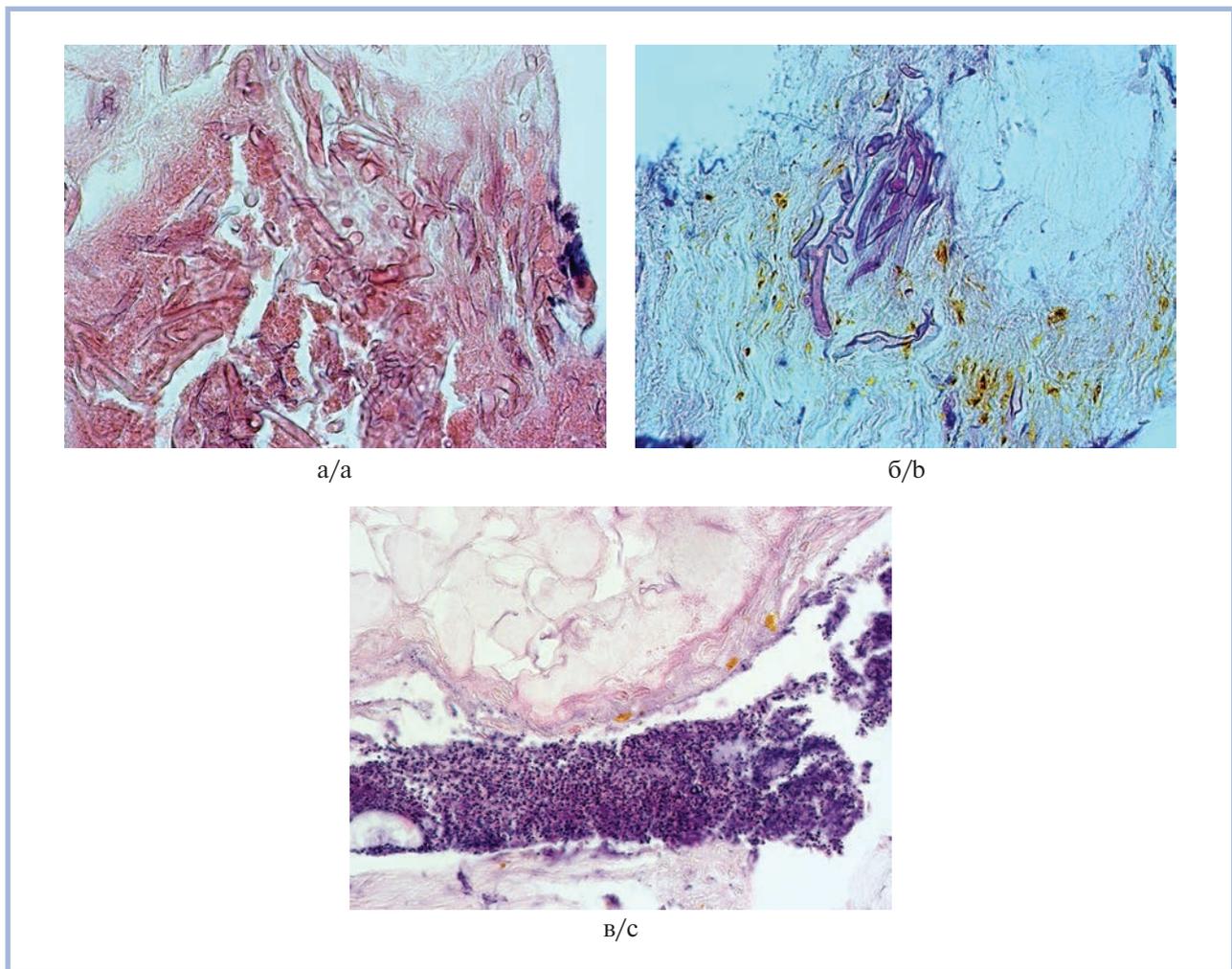
В тот же день проведено КТ-исследование головного мозга с внутривенным контрастированием и нативное КТ-исследование органов грудной клетки. Получены соответствующие заключения:

— при КТ-исследовании головного мозга определяют признаки абсцессов височной области справа; распространенного деструктивного процесса в правой орбите, глазном яблоке, правой гайморовой, лобной, клиновидной пазухах, в клетках решетчатого лабиринта, верхушке правой пирамиды с распространением на правую подвисочную и крыловидную ямки; мастоидита слева, эпимезотимпанита справа; хронического мастоидита справа; выявлены множественные гиподенсивные очаги в лобных и теменных долях (проявление дисциркуляторной энцефалопатии);

— при нативном КТ-исследовании свежих очаговых и инфильтративных изменений органов грудной клетки достоверно не выявлено.

На основании указанных данных выставлены диагнозы флегмоны подвисочной и крылонебной ямок, вторичного абсцесса правой височной доли, эндофтальмита правого глазного яблока, обострения хронического гнойного гемисинусита и хронического гнойного среднего отита с эпитимпанитом справа. После этого больная переведена в реанимационное отделение, где начата инфузионная, антибактериальная, антикоагулянтная терапия, нейропротекция и профилактика стресс-язв.

Наличие гнойно-деструктивных процессов указанных локализаций явилось показанием к проведению 27.05.21 комплексного оперативного вмешательства: видеоэндоскопическая сфеноидо-, гайморо-, этмоидо-, мастоидотомия, вскрытие и дренирование флегмоны челюстно-лицевой области, эвисцерация глазного яблока справа, дренирование и удаление с капсулой абсцесса височной доли головного мозга. После указанных вмешательств к лечению добавлена противогрибковая терапия. С 1-х суток послеоперационного периода отмечались мутность склеры, хемоз и отделяемое гнойного характера справа. На 2-е сутки хемоз стал более выраженным: гнойное отделяемое из правой орбиты у медиального угла глаза через свищевой ход, произведено его иссечение. Кроме того, определялось раз-



**Рис. 1. Наблюдение 1. Некротизированная ткань орбиты с наличием мицелия гриба.**

а — в участках некроза широкие лентовидные, не имеющие перегородок и ветвящиеся преимущественно под прямым углом (\*) гифы гриба разного диаметра,  $\times 400$ ; б — мицелий гриба без перегородок,  $\times 400$ ; в — некротические изменения ретробульбарной ткани с оставшимися фрагментами гифов гриба, с участками гнойного воспаления по периферии (флегмона),  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином.

**Fig. 1. Case 1. Necrotic tissue of the orbit with the fungus mycelium.**

а — in areas of necrosis, wide ribbon-like, non-septate and branching mainly at a right angle (\*) fungal hyphae of different diameters  $\times 400$ ; б — non-septate fungus mycelium,  $\times 400$ ; в — necrosis of the retrobulbar tissue with the remaining fragments of fungal hyphae, with areas of purulent inflammation along the periphery (phlegmon).  $\times 200$ . H&E.

литое гнойно-некротическое воспаление клетчатки орбиты. Некротизированные ткани частично удалены и отправлены на гистологическое исследование с задачей определить наличие мицелия.

Макроскопически присланный материал был представлен четырьмя фрагментами ткани белесоватого цвета от 0,4 до 0,7 см в диаметре. Микроскопически в участках некроза определялось наличие широких лентовидных не имеющих перегородок и ветвящихся преимущественно под прямым углом гифов гриба разного диаметра с участками гнойного воспаления по периферии (рис. 1). В рамках рутинного исследования не имелось возможности уточнить вид гриба. Отсутствие септ в структуре мицелия гриба более характерно для мукормикоза. Вокруг некротизированной орбитальной ткани обнаружены воспалительные инфильтраты, состоящие преимущественно из нейтрофильных лейкоцитов.

На 4-е сутки после операции (31.05.21) при осмотре обнаружено снижение мышечной силы в левой руке. Сохраняющаяся отрицательная динамика гнойного процесса в орбите стала показанием к экзентерации орбиты справа, выполненной 01.06.21. В послеоперационном периоде начала появляться слабopоложительная динамика, хотя сохранялось тяжелое состояние пациентки. Однако 03.06.21 был отмечен подъем температуры тела до  $38^{\circ}\text{C}$ . Выполненные 06.06.21 лабораторные исследования крови показали утяжеление анемии, усиление лейкоцитоза, повышение уровня глюкозы и выраженную гиперкалиемию, купированную в те же сутки (табл. 2).

Сохраняющаяся стойкая положительная динамика, улучшение состояния пациентки, восстановление мышечной силы в левой руке послужили основанием для выписки 12.06.21 из стационара с рекомендацией долечиваться по месту жительства.

**Таблица 2. Лабораторные данные пациентки К. в послеоперационном периоде****Table 2. Laboratory data of patient K. in the postoperative period**

Показатель	Значение	Норма
RBC (эритроциты), 10 <sup>12</sup> /л	3,48	3,9–4,7
HGB (гемоглобин), г/л	83	120–140
WBC (лейкоциты), 10 <sup>9</sup> /л	17,4	4–9
Калий, ммоль/л	8,26	3,3–5,1
Натрий, ммоль/л	141,8	136–145
Глюкоза, ммоль/л	13,5	3,3–5,5

**Таблица 3. Лабораторные данные пациента Х. при поступлении в стационар****Table 3. Laboratory data of patient X. upon admission to the hospital**

Показатель	Значение	Норма
RBC (эритроциты), 10 <sup>12</sup> /л	4	4–5
HGB (гемоглобин), г/л	130–160	120–140
HCT (гематокрит), %	36,9	40–48
PLT (тромбоциты), 10 <sup>9</sup> /л	474	150–400
WBC (лейкоциты), 10 <sup>9</sup> /л	16,2	4–9
Палочкоядерные нейтрофилы, %	12	1–6
Сегментоядерные нейтрофилы, %	64	47–72
Лимфоциты, %	16	19–37
Базофилы, %	0	0–1
Эозинофилы, %	1	0–5
Моноциты, %	7	3–11
СОЭ по Панченкову, мм/ч	57	2–15
Глюкоза сыворотки крови, ммоль/л	7,2	4,1–6,1

Во втором случае пациент Х., 70 лет, завершил лечение по поводу COVID-19, а через 3 дня, 21.02.22, появились жалобы на слепоту, покраснение, гнойное отделяемое, болевые ощущения в области левого глаза. 25.02.22 состояние ухудшилось, 28.02.22 был госпитализирован в отделение микрохирургии глаза на оперативное лечение. Из сопутствующей патологии отмечены хроническая сердечная недостаточность I ФК, гипертоническая болезнь II стадии, артериальная гипертензия 2-й степени, риск 3.

По данным объективного обследования температура тела 36,6 °С, артериальное давление 130/85 мм рт.ст., частота дыхательных движений и сердечных сокращений в пределах нормы, общее состояние удовлетворительное. Слева выраженный отек век, глазная щель сомкнута, подвижность ограничена. Пальпация левого глазного яблока болезненна. Выраженная смешанная инъекция глазного яблока, хемоз, слизистая оболочка ущемлена. Роговица отечная, мутная, передняя камера просматривается местами на среднюю глубину, тотальный гипопион. Глубже лежащие отделы не просматриваются. На основании данных симптомов выставлен диагноз гнойного эндофтальмита левого глаза. 01.03.22 проведены лабораторные исследования крови (табл. 3).

На рентгенограммах придаточных пазух от 28.02.22 отмечена округлая тень костной плотности в правой лобной пазухе 10 мм в диаметре.

По поводу гнойного эндофтальмита начата антибактериальная терапия (ципролет, цефотаксим) и 02.02.22 вы-

полнена энуклеация левого глаза, операционный материал отправлен на патолого-анатомическое исследование.

Во время макроскопического исследования операционного материала установлено, что глазное яблоко обычных размеров и формы. Роговица с очаговыми помутнениями по периферии. На разрезах в переднем и заднем отделах глаза гнойное содержимое (рис. 2, а). При микроскопическом исследовании в переднем и заднем отделах глаза гнойный экссудат с формированием микроабсцессов в структурных элементах. Главным образом вдоль хориоидеи и склеры, а также в участках некроза отмечено наличие скопленных мицелия гриба, представленного лентовидными, в основном не имеющими перегородок и ветвящимися преимущественно под прямым углом гифами разного диаметра (рис. 2, б). Также имелись признаки поражения эндотелия сосудов глаза (рис. 2, в). Описанная морфология мицелия в большей степени характерна для грибов семейства *Mucorales*, однако, как и в первом случае, для уточнения диагноза необходимы дополнительное ИГХ-исследование, а также специальные методы исследования.

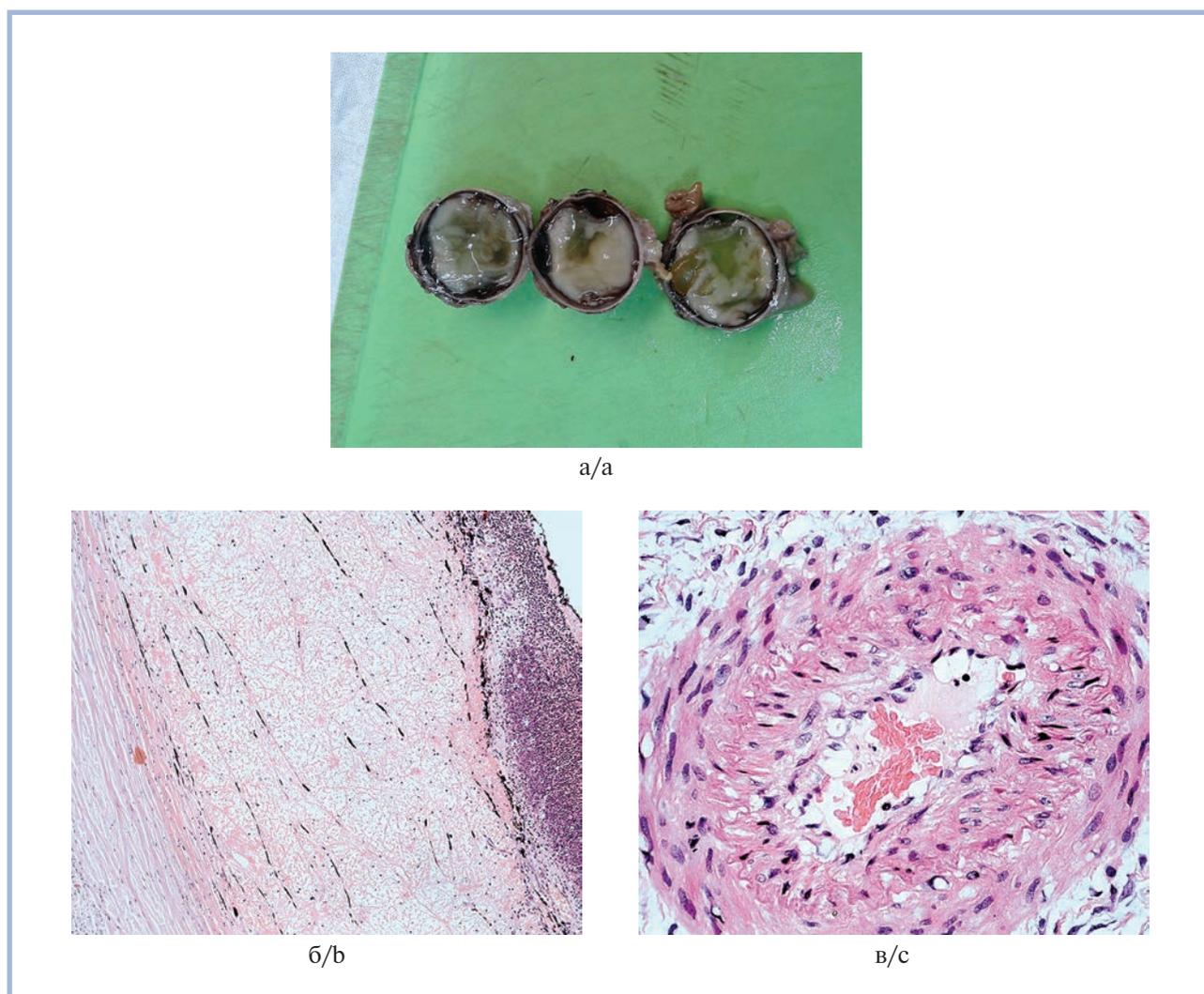
Послеоперационный период проходил без особенностей. 03.03.22 выполнена КТ придаточных пазух носа, гортани, в описании которой подтверждены остеома размером 8×10 мм и отсутствие патологических изменений придаточных пазух, полости носа, носоглотки и окружающих тканей. Удовлетворительное состояние и отсутствие осложнений в послеоперационном периоде явились основанием для выписки пациента из стационара 05.03.22.

В обоих описанных случаях отмечены нарушения метаболизма глюкозы: плохо контролируемый СД у пациентки К. и гипергликемия (7,2 ммоль/л) у пациента Х. Мукормикоз, ассоциированный с COVID-19, часто развивается на фоне неконтролируемого течения СД и кетоацидотических состояний [5–9]. Хотя влияние конкретных противодиабетических препаратов на риск развития грибковых инфекций сложно оценить, поддержание целевых значений глюкозы крови и гликированного гемоглобина, по всей видимости, благоприятно сказывается на этом аспекте.

## Заключение

Течение COVID-19 и постковидного периода может осложняться широким спектром вторичных инфекций, в том числе вызванных условно-патогенными микроорганизмами. С широким использованием антибиотиков и ГКС при лечении новой коронавирусной инфекции проблема микозов стала приобретать особую значимость во многих областях медицины, особенно в офтальмологии и оториноларингологии. При этом, учитывая высокую вероятность неблагоприятных исходов при запущенных случаях и в отсутствие лечения, для ранней диагностики и начала терапии микозов требуется высокая клиническая настороженность.

Распространение инфекционного процесса, такого как мукормикоз, на ткани орбиты либо обширное поражение структур глаза в большинстве случаев требуют проведения эвисцерации/энуклеации/экзентерации глазного яблока. К подобному инвалидизирующему вмешательству приходится прибегать, так как консервативная терапия без хирургического лечения имеет худший прогноз и более высокий риск летального исхода при микозах. Дополнительная опасность для пациента при этом заключается в способности мукормикоза имитировать течение бактериальных инфекций тканей глазницы и пазух носа.



**Рис. 2. Наблюдение 2. Гнойный эндофтальмит.**

а — энуклеированный глаз: на разрезах глазного яблока в переднем и заднем отделах гнойный экссудат с частичным расщеплением внутренних оболочек; б — вдоль склеры скопления мицелия гриба с прилегающим микроабсцессом,  $\times 100$ ; в — дистрофические изменения и очаговая десквамация эндотелия сосуда глаза,  $\times 400$ . б, в — окраска гематоксилином и эозином.

**Fig. 2. Case 2. Purulent endophthalmitis.**

а — enucleated eye: on anterior and posterior sections of the eyeball, there is purulent exudate with partial lysis of the inner membranes; б — accumulation of fungal mycelium with an adjacent microabscess along the sclera,  $\times 100$ ; в — dystrophic changes and focal desquamation of the eye vessel endothelium,  $\times 400$ . б, в — H&E.

Стоит отметить, что даже адекватный объем лечения не гарантирует сохранение органа зрения, быстрое излечение и благоприятный исход. Так, в первом случае потребовалась экзентерация орбиты, а во втором — энуклеация глаза, после которых необходим длительный восстановительный период. В связи с этим возникает целесообразность создания специализированных реабилитационных центров для снижения заболеваемости и смертности, а также повы-

шения качества жизни пациентов с постковидным синдромом. Это новое направление исследований можно использовать для усовершенствования методов профилактики офтальмологических заболеваний и, возможно, получения новых данных относительно патофизиологии COVID-19.

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Хмельницкий О.К., Аравийский Р.А., Шатин Л.И. О внутриклеточном паразитировании патогенных грибов. *Архив патологии*. 1978;40(6):72-78.

Khmel'nitskii OK, Araviiskii RA, Shatin LI. About intracellular infection of pathogenic fungi. *Arkhirv patologii*. 1978;40(6):72-78. (In Russ.).

2. Выкова VP, Elagina MI, Berchenko VI. Mucormycosis of the maxillary sinus and the ethmoid labyrinth. *Arkh Patol.* 1980;42(5):56-59.
3. Ермилов В.В., Смирнов А.В., Дорофеев Н.А., Григорьева Н.В., Барканова О.Н., Барканов В.Б., Быхалов Л.С., Поплавский А.Э., Горячев Ю.Н., Трубачев М.А., Курганская М.А. COVID-19 у молодых пациентов с коморбидной патологией на фоне иммуносупрессии (случай из практики). *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2021;1:84-88.  
Ermilov VV, Smirnov AV, Dorofeev NA, Grigor'eva NV, Barkanova ON, Barkanov VB, Bykhalov LS, Poplavskii AE, Goryachev YuN, Trubachev MA, Kurganskaya MA. COVID-19 in young patients with comorbid pathology on the background of immunosuppression (a case study). *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2021;1:84-88. (In Russ.).
4. Министерство здравоохранения Российской Федерации. *Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15 (22.02.22).* Ссылка активна на 12.05.22. Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiiskoi Federatsii. Vremennye metodicheskie rekomendatsii. Profilaktika, diagnostika i lechenie novoi koronavirusnoi infektsii (COVID-19). Versiya 15 (22.02.22). Accessed on 12.05.22. (In Russ.).  
[https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0\\_COVID-19\\_V15.pdf](https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/%D0%92%D0%9C%D0%A0_COVID-19_V15.pdf)
5. Rathore CPS, Ansari S, Bajpai T. A case of COVID-19 triggered Rhino-Orbital Pulmonary Mucormycosis in Central India. *Biomed Res J.* 2021;8(1):25-28.  
[https://doi.org/10.4103/bmrj.bmrj\\_8\\_21](https://doi.org/10.4103/bmrj.bmrj_8_21)
6. Honavar SG. Code Mucor: Guidelines for the Diagnosis, Staging and Management of Rhino-Orbital-Cerebral Mucormycosis in the setting of COVID-19. *Indian J Ophthalmol.* 2021;69(6):1361-1365.  
[https://doi.org/10.4103/ijo.ijo\\_1165\\_21](https://doi.org/10.4103/ijo.ijo_1165_21)
7. Singh AK, Singh R, Joshi SR, Misra A. Mucormycosis in COVID-19: a systematic review of cases reported worldwide and in India. *Diabetes Metab Syndr.* 2021;15(4):102146.  
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.05.019>
8. Veisi A, Bagheri A, Eshaghi M, Rikhtehgar MH, Kanavi MR, Farjad R. Rhino-orbital mucormycosis during steroid therapy in COVID-19 patients: a case report. *Eur J Ophthalmol.* 2021;11206721211009450.  
<https://doi.org/10.1177/11206721211009450>
9. Pakdel F, Ahmadikia K, Salehi M, Tabari A, Jafari R, Mehrparvar G, Rezaie Y, Rajaei S, Alijani N, Barac A, Abdollahi A, Khodavaisy S. Mucormycosis in patients with COVID-19: a cross-sectional descriptive multicentre study from Iran. *Mycoses.* 2021;64(10):1238-1252.  
<https://doi.org/10.1111/myc.13334>
10. Хостелиди С.Н., Зайцев В.А., Пелих Е.В., Яшина Е.Ю., Родионова О.Н., Богомолова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Клишко Н.Н. Мукормикоз на фоне COVID-19: описание клинического случая и обзор литературы. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2021;23(3):255-262.  
Hostelidi SN, Zaitsev VA, Pelikh EV, Yashina EYu, Rodionova ON, Bogomolova TS, Avdeenko JuL, Klimko NN. Mucormycosis against the background of COVID-19: a description of a clinical case and a review of the literature. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2021;23(3):255-262. (In Russ.).  
<https://doi.org/10.36488/cmasc.2021.3.255-262>
11. Ермилов В.В., Снигур Г.Л., Смирнов А.В., Рогов А.А., Чулков О.Д. *Краткий атлас протозойных болезней, гельминтозов и микозов человека.* Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет; 2015.  
Ermilov VV, Snigur GL, Smirnov AV, Rogov AA, Chulkov OD. *Kratkii atlas protozoinykh boleznei, gel'mintozov i mikofov cheloveka.* Volgograd: Volgogradskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet; 2015. (In Russ.).

Поступила 13.05.2022

Received 13.05.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Тератомы средостения плода. Описание двух наблюдений

© И.В. БАРИНОВА<sup>1,2</sup>, Е.Н. АНДРЕЕВА<sup>1,2</sup>, А.Р. ФАТТАХОВ<sup>1</sup>, А.А. АКСЕНОВА<sup>1</sup>, С.Н. МИЛОВАНОВА<sup>1</sup>, С.В. СТЕПНОВА<sup>1</sup>, Ю.В. БРУСЕНЦОВА<sup>1</sup>, Е.Б. ЕФИМКОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», Московская область, Россия;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Тератомы являются одними из наиболее частых опухолей, диагностируемых у плодов и новорожденных. В данной возрастной группе преобладают экстрагонадные тератомы, среди них на долю средостения приходится до 15% тератом перинатального периода. Они могут быть связаны с тимусом или щитовидной железой, в ряде случаев четкой связи с прилежащими органами выявить не удастся. Тератомы сердца, также локализованные в средостении, нередко рассматриваются отдельно от медиастинальных; наиболее часто опухоль поражает перикард. Представлено описание двух наблюдений тератом средостения, выявленных при УЗИ во II триместре беременности, с признаками быстрого роста и типичными для данной локализации опухоли симптомами компрессии — гидроперикардом и другими проявлениями неиммунной водянки плода. В обоих случаях диагностированы незрелые тератомы (grade 2 и 3) с преобладанием незрелой нейроэктодермальной ткани, а также с производными энтодермы, включая участки гепатоидного строения, микрожелезистыми структурами и кистами, выстланными слизеобразующим эпителием, мезодермальный компонент был представлен гиалиновым хрящом. При иммуногистохимическом исследовании отмечена крайне высокая пролиферативная активность в незрелом нейроэктодермальном компоненте: в нейроэпителии определялось более 90% позитивных ядер при реакции с антителами к Ki-67. Во всех других тканевых элементах пролиферативная активность была низкой.

**Ключевые слова:** врожденные тератомы, средостение, перикард, гидроперикард.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Барина И.В. — <https://orcid.org/0000-0003-0447-1734>

Андреева Е.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-5649-0534>

Фаттахов А.Р. — <https://orcid.org/0000-0002-5889-7696>

Аксенова А.А. — <https://orcid.org/0000-0003-1591-0712>

Милованова С.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-6993-566X>

Степнова С.В. — <https://orcid.org/0000-0002-7582-0914>

Брусенцова Ю.В. — <https://orcid.org/0000-0003-0758-0434>

Ефимкова Е.Б. — <https://orcid.org/0000-0002-4325-0654>

**Автор, ответственный за переписку:** Фаттахов А.Р. — e-mail: 1983fattakhov@gmail.com

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Барина И.В., Андреева Е.Н., Фаттахов А.Р., Аксенова А.А., Милованова С.Н., Степнова С.В.,

Брусенцова Ю.В., Ефимкова Е.Б. Тератомы средостения плода. Описание двух наблюдений. *Архив патологии*. 2022;84(5):50–58.

<https://doi.org/10.17116/patol20228405150>

## Fetal mediastinal teratomas. Report of two cases

© I.V. BARINOVA<sup>1,2</sup>, E.N. ANDREEVA<sup>1,2</sup>, A.R. FATTAKHOV<sup>1</sup>, A.A. AKSENOVA<sup>1</sup>, S.N. MILOVANOVA<sup>1</sup>, S.V. STEPNOVA<sup>1</sup>, YU.V. BRUSENTOVA<sup>1</sup>, E.B. EFIMKOVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Moscow Region, Russia;

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

### ABSTRACT

Teratomas are one of the most common tumors diagnosed in fetuses and newborns. In this age group, extragonadal teratomas predominate, among which the mediastinum ones accounts for up to 15% of teratomas of the perinatal period. They may be associated with the thymus or thyroid gland; in some cases a clear connection with adjacent organs cannot be identified. Teratomas of the heart, also localized in the mediastinum, are often considered separately from the mediastinal ones; most often the tumor affects the pericardium. The article describes two cases of mediastinal teratomas detected by ultrasound in the second trimester of pregnancy, with signs of rapid growth and compression symptoms typical for this localization of the tumor — hydropericardium and other manifestations of non-immune fetal hydrops. In both cases, immature teratomas (grade 2 and 3) were diagnosed with a predominance of immature neuroectodermal tissue, as well as with the presence of endoderm derivatives, including areas of the hepatoid structure, microglandular structures and cysts lined with mucus-forming epithelium. The mesodermal component was represented by hyaline cartilage. An immunohistochemical study revealed an extremely high proliferative activity in the immature neuroectodermal component — more than 90% of positive nuclei were detected in the neuroepithelium upon reaction with Ki67 antibodies. In all other tissue elements, proliferative activity was low.

**Keywords:** congenital teratomas, mediastinum, pericardium, hydropericardium.

**INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:**

Barinova I.V. — <https://orcid.org/0000-0003-0447-1734>  
Andreeva E.N. — <https://orcid.org/0000-0002-5649-0534>  
Fattakhov A.R. — <https://orcid.org/0000-0002-5889-7696>  
Aksenova A.A. — <https://orcid.org/0000-0003-1591-0712>  
Milovanova S.N. — <https://orcid.org/0000-0002-6993-566X>  
Stepnova S.V. — <https://orcid.org/0000-0002-7582-0914>  
Brusentsova Yu.V. — <https://orcid.org/0000-0003-0758-0434>  
Efimkova E.B. — <https://orcid.org/0000-0002-4325-0654>  
**Corresponding author:** Fattakhov A.R. — e-mail: 1983fattakhov@gmail.com

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Barinova IV, Andreeva EN, Fattakhov AR, Aksenova AA, Milovanova SN, Stepnova SV, Brusentsova YuV, Efimkova EB. Fetal mediastinal teratomas. Report of two cases. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):50–58. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405150>

Тератомы — опухоли, возникающие при нарушении миграции недифференцированных половых клеток при морфогенезе половых желез во внутриутробном периоде, обычно они представлены тканями, производными трех зародышевых листков в разных сочетаниях. Типичная локализация тератом — яички, яичники, крестцово-копчиковая область, средостение, забрюшинное пространство, зев, основание черепа. Тератомы относят к группе герминогенных опухолей и подразделяют на зрелые и незрелые. В незрелых опухолях выделяют 3 степени дифференцировки (grade 1–3) [1, 2].

Тератомы относительно часто диагностируют у плодов и новорожденных. Среди выявленных внутриутробно опухолей разной локализации именно эти занимают 3-е место (около 16%), уступая по частоте лишь лимфангиоме и рабдомиоме [3, 4].

Тератомы плодов и новорожденных имеют ряд существенных клиничко-морфологических отличий от тератом, развивающихся у более старших детей и взрослых. У новорожденных преобладают экстрагонадные тератомы, наиболее часто (до 40% всех тератом перинатального периода) крестцово-копчиковые [5, 6]. Тератомы новорожденных традиционно подразделяют на зрелые и незрелые. По мнению ряда исследователей [7], выделение степени дифференцировки в тератомах новорожденных не требуется, так как наличие незрелой ткани в них не является признаком злокачественности и не влияет на прогноз. В то же время другие авторы [2, 6, 8] считают необходимым указывать степень дифференцировки опухоли.

Главный признак, определяющий злокачественный потенциал опухоли, — наличие элементов опухоли желточного мешка [9]. Следует обращать внимание на присутствие в опухоли гепатоидной ткани и зрелых железистых структур кишечного и легочного типов, являющихся признаком высококодифференцированной опухоли желточного мешка. Прогностическое значение таких структур нередко недооценивается [10, 11]. Еще один очень важный прогностический признак — возможность полного удаления опухоли, что значительно снижает риск рецидивирования и малигнизации [7, 10, 12].

Тератомы средостения в перинатальном периоде составляют до 15% наблюдений всех тератом. Опухоль чаще располагается в переднем средостении, может быть связана с тимусом или щитовидной железой, в ряде случаев четкую связь опухоли с прилежащими органами определить не удается.

Тератомы сердца также локализованы в средостении, однако нередко рассматриваются отдельно от опухолей средостения. Наиболее часто опухоль поражает перикард [13]. Обычно опухоль располагается в полости перикарда, в области легочной артерии или аорты, имеет широкую ножку и находится в непосредственной близости от правого предсердия [14–16]. Тератомы собственно сердечной мышцы крайне редки.

Тератомы средостения, в том числе интраперикардальные, сопровождаются развитием гидроторакса вплоть до тампонады сердца, неиммунной водянки плода; у новорожденных отмечается тяжелый синдром дыхательного расстройства [17–19].

Макроскопически опухоли обычно дольчатые, с кистами, могут содержать кости и хрящ. Особенности строения опухоли с наличием кальцинатов, костной и жировой ткани обуславливают ее смешанную эхоструктуру. Сонографически опухоль выглядит как четко очерченное эхогенное, неоднородное образование с неровными контурами, солидными и кистозными компонентами и/или гиперэхогенными включениями [8, 20, 21]. В некоторых случаях из-за жировой ткани внутри опухоли можно наблюдать задержку акустического усиления эхо-сигнала. Внутриопухолевые включения костной ткани лоцируются как очаговые включения повышенной эхогенности с эхотенью. Тератомы активно растут между 20-й и 40-й неделями беременности, возможно значительное увеличение их размеров за короткий промежуток времени [15, 21].

Приводим два наблюдения тератом средостения, выявленных у плодов эхографически при втором пренатальном скрининге.

В обоих случаях при проведении пренатального консилиума прогноз для жизни и здоровья будущего ребенка оценен как неблагоприятный и, учитывая мнение семьи, беременность была прервана по медицинским показаниям.

## Наблюдение 1

Пациентка Ц., 29 лет. Беременность вторая, наступила самопроизвольно. При скрининге в 12 нед установлены низкий риск хромосомных аномалий и отсутствие врожденных пороков развития. При скрининге в 20 нед по месту жительства на УЗИ заподозрен врожденный порок сердца плода. Для экспертного УЗИ беременная направлена в медико-генетическое отделение МОНИИАГ. Во время УЗИ в режиме цветного доплеровского картирования в переднем средостении плода обнаружено образование не-

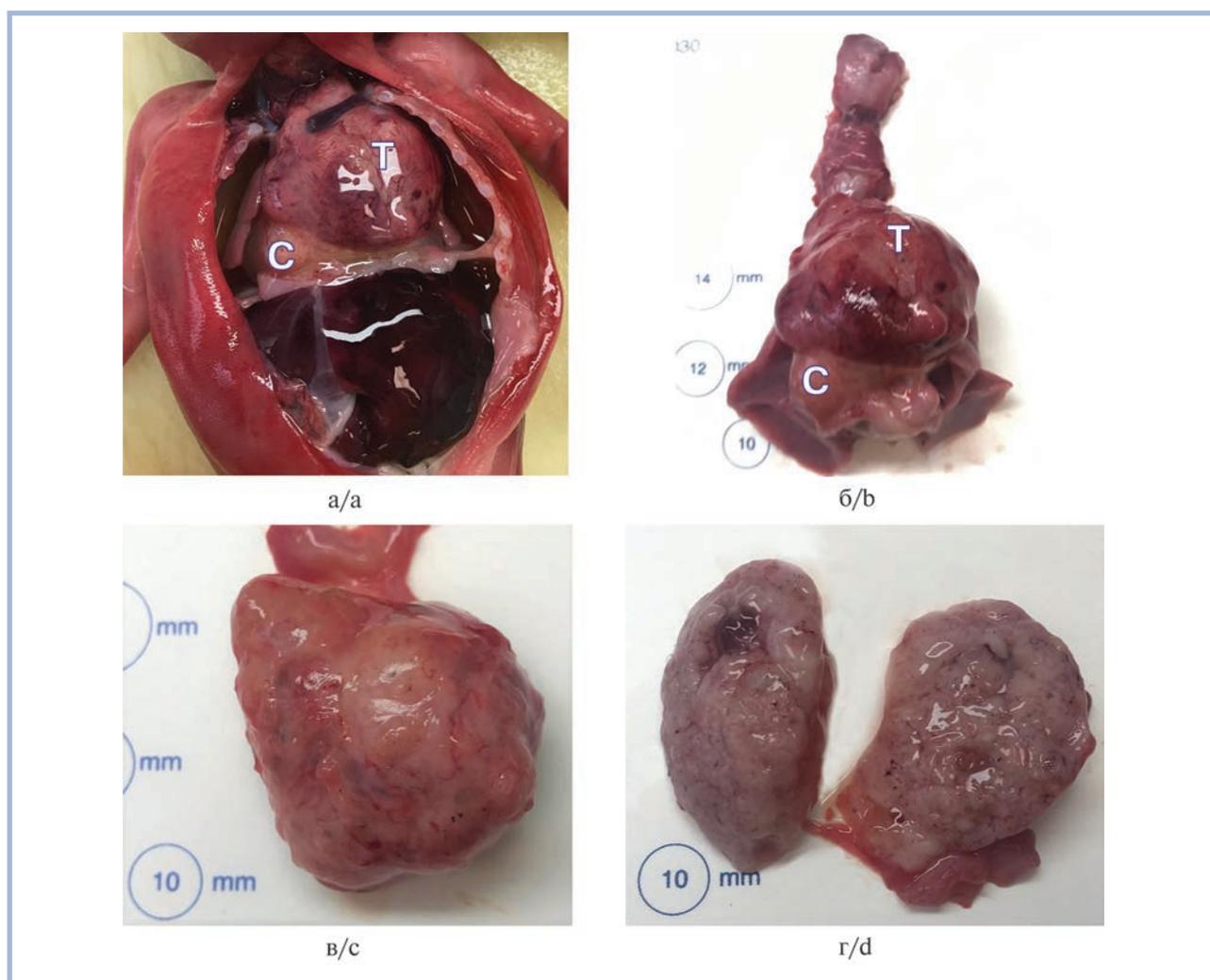


**Рис. 1.** Ультразвуковая картина перикардиальной тератомы плода (наблюдение 1).

а, б — образование перикарда неоднородной кистозно-солидной структуры; в — асцит.

**Fig. 1.** Fetal pericardial teratoma (case 1). Ultrasonic picture.

а, б — the pericardium neoplasm of a heterogeneous cystic-solid structure; c- ascites.

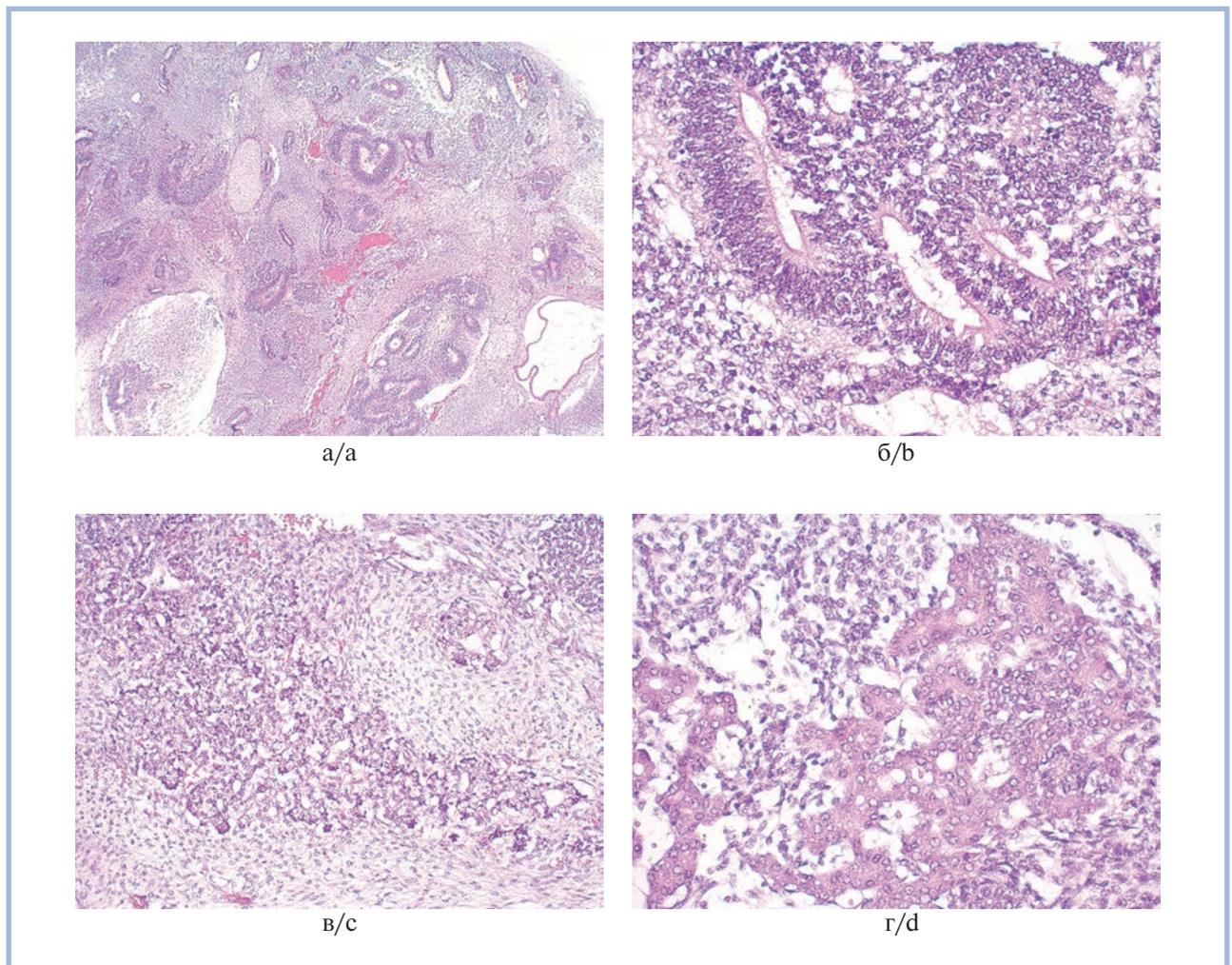


**Рис. 2.** Тератома средостения плода (наблюдение 1).

а — тератома (Т) заполняет средостение, сдавливает плевральные полости и смещает сердце (С) вправо; б — шейно-грудной комплекс органов; в — поверхность опухоли бугристая, в тонкой капсуле; г — вид тератомы на разрезе.

**Fig. 2.** Fetal mediastinal teratoma (case 1).

а — teratoma (T) fills the mediastinum, compresses the pleural cavities and displaces the heart (C) to the right; б — cervicothoracic complex of organs; (c) the surface of the tumor is humpy, in a thin capsule; d — cut surface of teratoma.

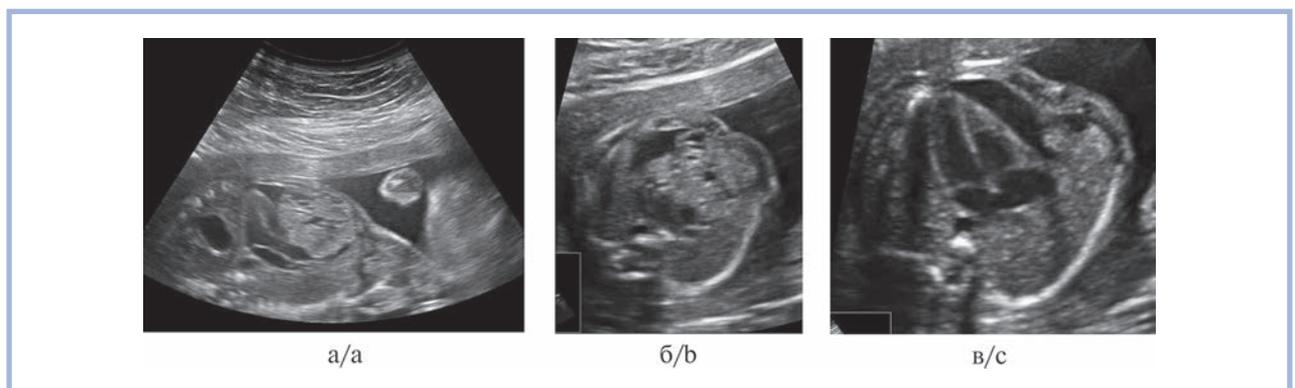


**Рис. 3. Гистологическое строение тератомы средостения плода (наблюдение 1).**

а, б — незрелая нейроэктодерма, представленная примитивными розетками, трубчатыми, железистоподобными структурами из нейроэпителия; в, г — железистая ткань дольчато-протокового, микрожелезистого строения. Окраска гематоксилином и эозином; а —  $\times 25$ , б, г —  $\times 200$ , в —  $\times 100$ .

**Fig. 3. Histological structure of fetal mediastinal teratoma (case 1).**

а, б — immature neuroectoderm, represented by primitive rosettes, tubular, glandular structures from the neuroepithelium; в, г — glandular tissue of lobular-ductal, microglandular structure. H&E, а —  $\times 25$ , б, д —  $\times 200$ , в —  $\times 100$ .

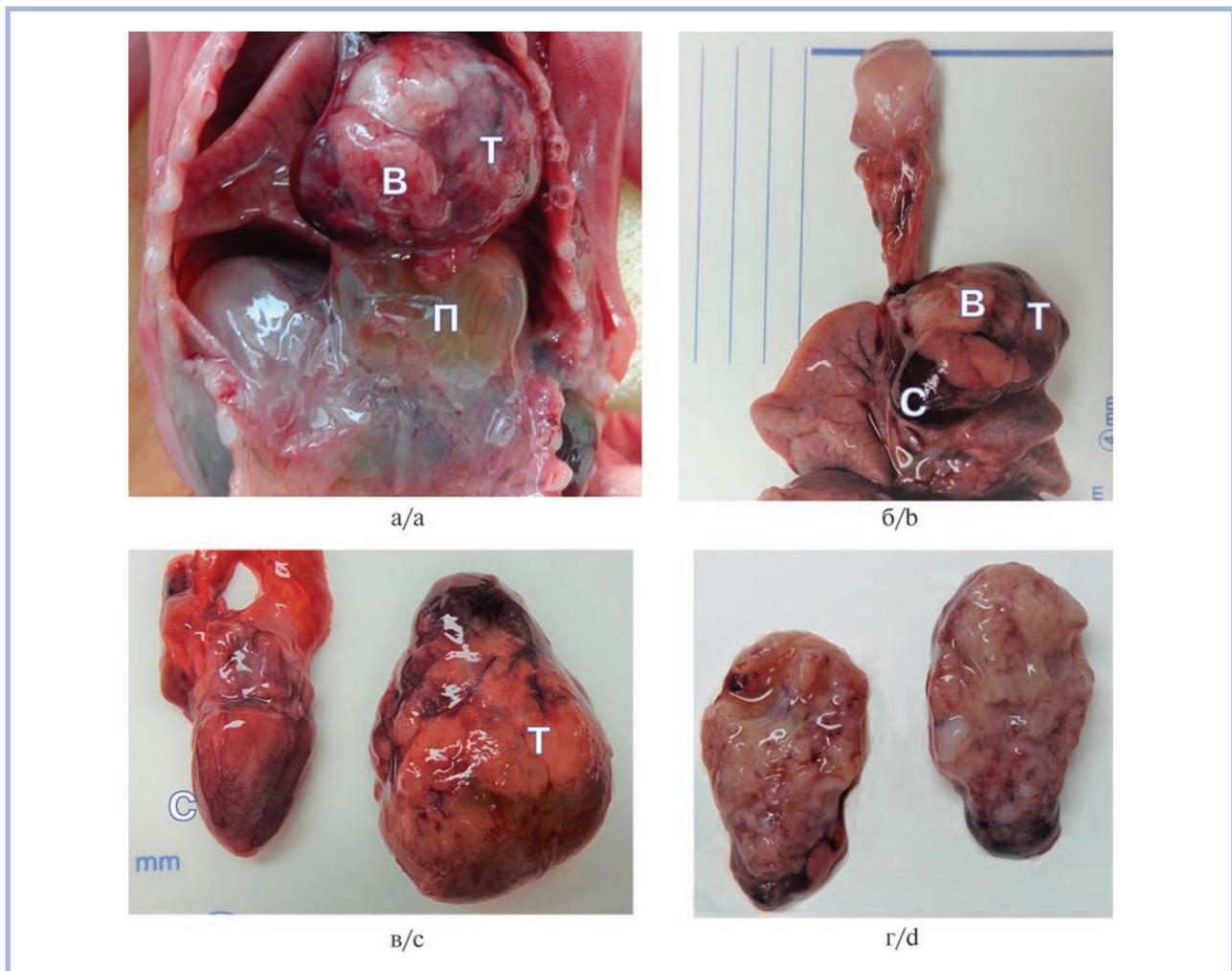


**Рис. 4. Ультразвуковая картина сердца плода (наблюдение 2).**

а, б — образование перикарда неоднородной кистозно-солидной структуры; в — четырехкамерный срез сердца плода, гидроперикард.

**Fig. 4. Ultrasound picture of the fetal heart (case 2).**

а, б — the pericardium neoplasm of a heterogeneous cystic-solid structure; в — 4-chamber section of the fetal heart, hydropericardium.



**Рис. 5. Тератома средостения плода (наблюдение 2).**

а — в грудной полости тератома (Т) заполняет средостение, сдавливает плевральные полости (П) и оттесняет гидроперикард к диафрагме, на поверхности тератомы вилочковая железа (В); б — шейно-грудной комплекс органов; в — сердце (С) с кровоизлиянием в эпикарде в области верхушки и тератома с кровоизлияниями в капсуле; г — вид тератомы на разрезе.

**Fig. 5. Fetal mediastinal teratoma (case 2).**

а — in the chest cavity, the teratoma (Т) fills the mediastinum, compresses the pleural cavities (П), and pushes the hydropericardium to the diaphragm; on the surface of the teratoma is the thymus gland (В); б — cervicothoracic complex of organs; в — heart (С) with hemorrhage in the epicardium at the apex and teratoma with hemorrhages in the capsule; г — cut surface of teratoma.

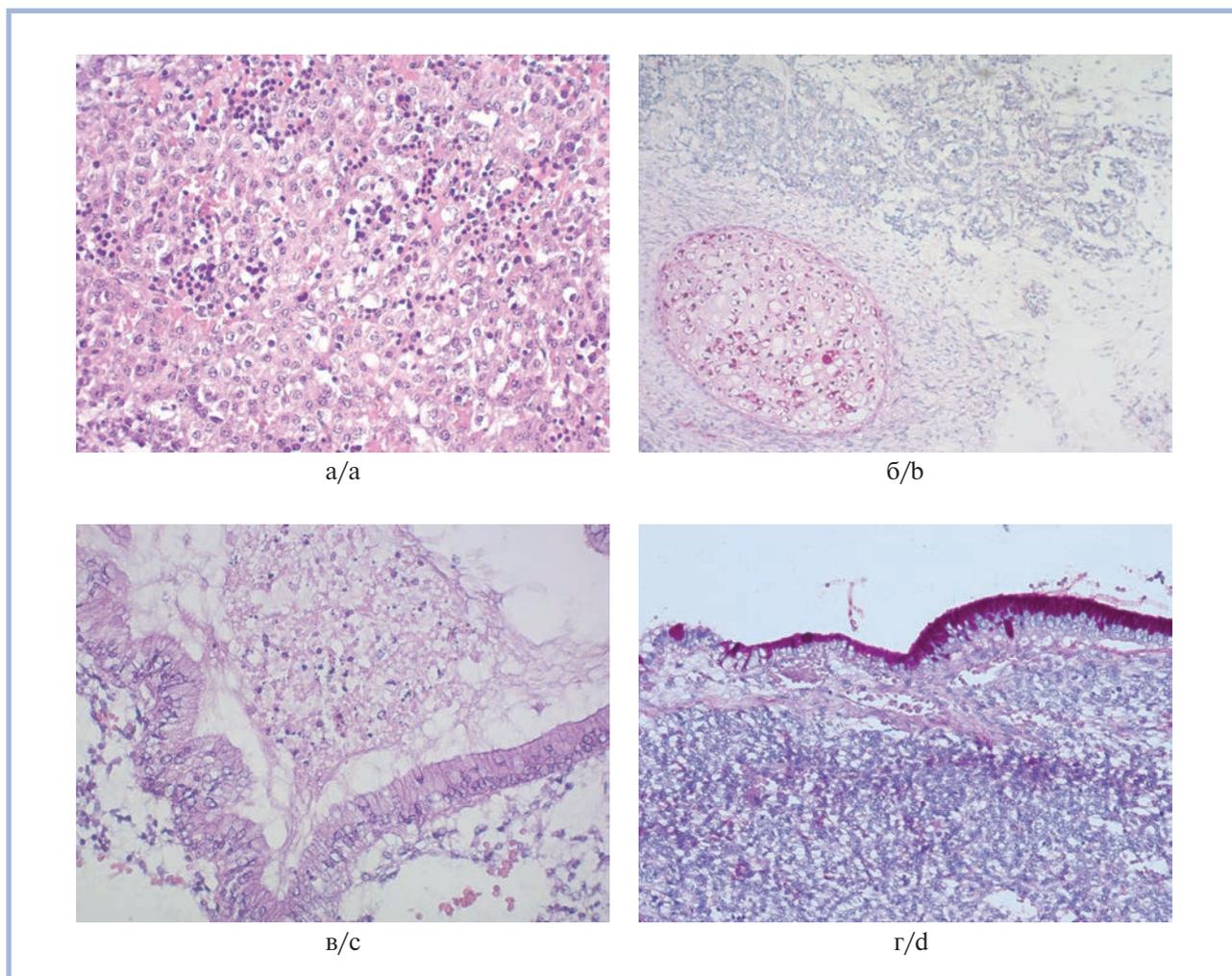
однородной кистозно-солидной структуры с единичными локусами кровотока размером 27,5×21,5×20 мм. Сердце не увеличено, выходные тракты без особенностей, отмечается незначительное количество жидкости в перикарде. При контрольном исследовании через 10 дней отмечена выраженная отрицательная динамика: быстрый рост опухоли до 36×40×34 мм, находящейся в полости перикарда, гидроперикард, гидроторакс, асцит (рис. 1). По заключению пренатального консилиума беременность была прервана на сроке 21—22 нед.

*Результаты патолого-анатомического исследования.*

Плод женского пола без видимых пороков развития, массой 490 г, длиной 24 см. В плевральных полостях светло-желтая жидкость общим объемом 5 мл. В полости перикарда 2 мл светло-желтой жидкости. У основания сердца определяется опухоль диаметром 4 см, массой 19,86 г, с бугристой поверхностью, в гладкой блестящей тонкой капсуле, на разрезе серая с белесоватыми участками, дряблая,

мелкодольчатая, с немногочисленными кистами размером 0,1—0,4 см (рис. 2). С поверхности разреза стекает жидкость с примесью слизи. Сердце размером 2×1,5×0,7 см, массой 2,16 г. Магистральные сосуды расположены правильно. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы, дефекта межжелудочковой перегородки нет. В брюшной полости 7 мл светло-желтой жидкости. Масса и гистологическое строение органов соответствуют гестационному возрасту плода.

Микроскопически опухоль имеет строение незрелой тератомы, представленной преимущественно незрелой нейроэктодермальной тканью — многочисленными нервными трубочками и псевдорозетками из темных гиперхромных высоких цилиндрических клеток (3-я степень незрелости, high-grade) (рис. 3, а, б), энтодермальными элементами — кистами, выстланными слизеобразующим эпителием, трабекулярными, железистоподобными, микрожелезистыми структурами, сформированными из ку-



**Рис. 6.** Гистологическое строение тератомы средостения плода (наблюдение 2).

а — участки гепатоидного строения с очагами эритропоэза; б — гиалиновый хрящ, отсутствие слизи в железистом эпителии; в — слизеобразующий эпителий кист; г — положительная PAS-реакция в эпителии; а, в, г — окраска гематоксилином и эозином; б, г — PAS-реакция; а, в, г —  $\times 200$ , б —  $\times 100$ .

**Fig. 6.** Histological structure of fetal mediastinal teratoma (case 2).

а — areas of the hepatoid structure with foci of erythropoiesis,  $\times 200$ ; б — hyaline cartilage, absence of mucus in the glandular epithelium,  $\times 100$ ; в — mucus-forming epithelium of cysts,  $\times 200$ ; г — positive PAS reaction in the epithelium,  $\times 200$ . а, в, г — H&E; б, д — PAS reaction.

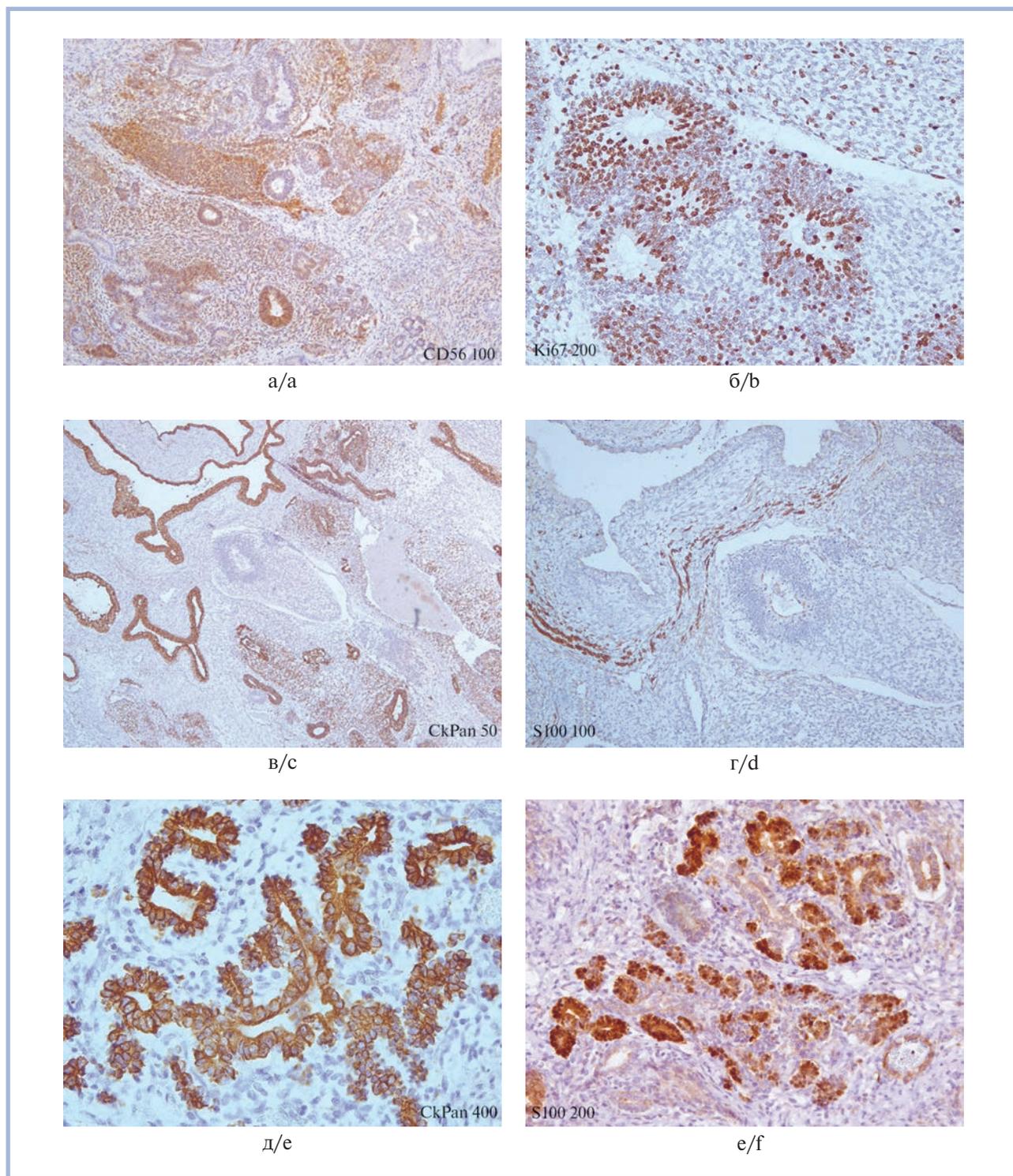
бических клеток с эозинофильной цитоплазмой и пузырьковидным ядром, железистой тканью дольчато-альвеолярного строения, производными мезодермы — гиалиновым хрящом (рис. 3, в, г).

## Наблюдение 2

Пациентка Т., 30 лет. Беременность вторая, наступила самопроизвольно. Течение беременности в I триместре осложнилось артериальной гипертензией (АД до 140/90 мм рт.ст.). При скрининге в 11,4 нед установлены низкий риск хромосомных аномалий и отсутствие врожденных пороков развития. При скрининге во II триместре при сроке 21 нед 4 дня заподозрен врожденный порок развития левого легкого. При обследовании беременной в медико-генетическом отделении МОНИИАГ в сроке 22 нед обнаружена перикардальная тератома больших размеров: в полости перикарда из корня сосудов исходит опухолевидное образование размером  $36 \times 24 \times 20$  мм сме-

шанной структуры с множественными кистозными полостями; выраженный гидроперикард (рис. 4).

*Результаты патолого-анатомического исследования.* Плод женского пола без видимых пороков развития, массой 450 г, длиной 23 см. В плевральных полостях светло-желтая жидкость объемом по 10 мл. В переднем средостении в проекции основания сердца определяется опухоль неправильной формы размером  $40 \times 25 \times 18$  мм, массой 8 г, мягкоэластической консистенции, серо-розового цвета, с бугристой поверхностью, в гладкой блестящей тонкой капсуле, на разрезе серо-розовая, местами белесоватая, мелкодольчатого строения, с немногочисленными кистами диаметром 0,1—0,3 см, с поверхности разреза стекает жидкость с примесью слизи. Вилочковая железа распластана на переднебоковой поверхности опухоли (рис. 5). В полости перикарда 5 мл бесцветной жидкости. Сердце размером  $2,2 \times 1,5 \times 0,8$  см, массой 3 г. Магистральные сосуды расположены правильно. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. В брюшной полости 15 мл светло-желтой жид-



**Рис. 7. Результаты иммуногистохимического исследования тератом средостения плода.**

а — иммуногистохимическая реакция с антителами к CD56: очаги положительной стромы и нейроэпителия,  $\times 100$ ; б — высокая пролиферативная активность нейроэпителия, антитела к Ki-67,  $\times 200$ ; в — антитела к панцитокератину: отрицательная реакция нейроэктодермы и положительная — в кистах и железистых структурах,  $\times 50$ ; г — отрицательная реакция нейроэктодермы с антителами S100 и очаговая положительная — в строме,  $\times 100$ ; д — положительная цитоплазматическая реакция железистого эпителия с антителами к панцитокератину,  $\times 400$ ; е — очаговая положительная цитоплазматическая реакция железистого эпителия с антителами к S100,  $\times 200$ .

**Fig. 7. Results of immunohistochemical study of fetal mediastinal teratomas.**

а — immunohistochemical reaction with antibodies to CD56: foci of positive stroma and neuroepithelium,  $\times 100$ ; б — high proliferative activity of neuroepithelium, antibodies to Ki67,  $\times 200$ ; в — antibodies to pancytkeratin: negative reaction of neuroectoderm and positive reaction in cysts and glandular structures,  $\times 50$ ; д — negative reaction of neuroectoderm with antibodies to S100 and focal positive in the stroma,  $\times 100$ . е — positive cytoplasmic reaction of the glandular epithelium with antibodies to pancytkeratin,  $\times 400$ ; ф — focal positive cytoplasmic reaction of the glandular epithelium with antibodies to S100,  $\times 200$ .

кости. Масса и гистологическое строение органов соответствуют гестационному возрасту плода.

Микроскопически опухоль имеет строение незрелой тератомы, представленной незрелой нейроэктодермальной тканью (микроскопические признаки аналогичны наблюдению 1, см. рис. 3), с нейроэпителиальными клетками, формирующими розетки и тубулярные структуры, занимающими 1—3 поля зрения при увеличении в 400 раз (2-я степень незрелости, high-grade), с энтодермальными элементами — кистами, выстланными цилиндрическим эпителием, участками гепатоидного строения с неполноценными печеночными балками и очагами эритропоэза, железистой тканью дольчато-альвеолярного строения, мезодермой — хрящевой тканью (рис. 6).

Сходство гистологического строения медиастинальных тератом в наших наблюдениях распространялось и на их иммуногистохимический портрет (рис. 7). Так, в преобладающих по объему участках незрелой нейроэктодермы отмечались очаговая позитивная реакция с антителами к CD56 в цитоплазме клеток стромы и нейроэпителии и отсутствие реакции с антителами к панцитокератину и S100. В меньших по объему участках железистой ткани проявлялась позитивная реакция в цитоплазме с антителами к панцитокератину, очаговая позитивная реакция с антителами к S100 в эпителии желез и строме, слабовыраженная с антителами к bcl2. Высокая пролиферативная активность отмечена исключительно в незрелой нейроэктодерме, в нейроэпителии более 90% позитивных ядер — при реакции с антителами к Ki-67. В других участках опухолевой ткани пролиферативная активность низкая. Отрицательная реакция во всех компонентах опухолевой ткани отмечена при реакции с антителами к p53.

Учитывая структурные особенности опухолевой ткани медиастинальной тератомы плода — преобладающий не-

зрелый нейроэктодермальный компонент (не менее 50% в каждом исследованном фрагменте), высокую пролиферативную активность нейроэпителии, высокую степень незрелости, — следует сделать вывод о прогрессирующем и быстром росте опухоли в обоих случаях. При этом в опухолевой ткани преобладает маркер невральная дифференцировки CD56 в строме, нейроэпителии и отмечается очаговая слабовыраженная экспрессия онкогенных белков p53 и bcl2, задерживающих апоптоз, регулирующих рост и репликацию клетки. Обсуждая локализацию тератом с учетом данных эхографии, мы придерживаемся термина «тератомы средостения плода» на основании макроскопических данных: в обоих наблюдениях опухоли больших размеров, превышавших в 2 раза размеры сердца, были тесно связаны с наружным листком перикарда, капсулой вилочковой железы, не распространялись на сосуды основания сердца. Посмертное патолого-анатомическое исследование подтвердило прижизненную эхографическую диагностику быстрого роста и циркуляторных осложнений медиастинальной тератомы, развившихся в середине II триместра беременности вследствие сдавления и смещения органов грудной полости — гидроторакса, гидроперикарда, асцита. Ранняя декомпенсация кровообращения плода, являющаяся жизнеугрожающим состоянием, обусловлена бурным опухолевым ростом гистологически незрелого нейроэктодермального компонента тератомы. Незрелость и высокая пролиферативная активность опухолевой ткани, наличие участков гепатоидного строения как факторов злокачественного потенциала незрелой тератомы, вероятно, не имеют клинического значения для внутриутробного плода во II триместре беременности.

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Vang R, Zaloudek C. Immature teratoma of the ovary. In: WHO Classification of Tumours. *Female genital tumours*. 5th ed, Vol. 4. France, Lyon: IARC; 2020;121-122. Available at: IARC Publications Website — Female Genital Tumours
- O'Connor DM, Norris HJ. The influence of grade on the outcome of stage I ovarian immature (malignant) teratomas and the reproducibility of grading. *Int J Gynecol Pathol*. 1994;13(4):283-289. <https://doi.org/10.1097/00004347-199410000-00001>
- Stajevic M, Dizdarevic I, Krunic I, Topic V. Mediastinal teratoma presenting with respiratory distress and cardiogenic shock in a neonate. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2020;30(5):788-789. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz328>
- Kamil D, Tepelmann J, Berg C, Heep A, Axt-Fliehdner R, Gembruch U, Geipel A. Spectrum and outcome of prenatally diagnosed fetal tumors. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;31(3):296-302. <https://doi.org/10.1002/uog.5260>
- Isaacs H Jr. Germ cell tumors. Pt 2. In: Gilbert-Barness E, Kapur RP, Oligny LL, Siebert JR, Potter EL. *Potter's pathology of the fetus, infant and child*. 2<sup>nd</sup> ed. 2 vol. Mosby Elsevier; 2007;1690-1704.
- Сарыева О.П., Золотухина А.О., Проценко Е.В., Шарыгин С.А. Врожденные незрелые тератомы. Описание двух наблюдений. *Архив патологии*. 2021;83(2):33-37. Saryeva OP, Zolotukhina AO, Protsenko EV, Sharygin SA. Vrozhdennye nezrelye teratomy. Opisaniye dvukh nablyudenii. *Arkhiv patologii*. 2021;83(2):33-37. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20218302133>
- Charles AK. Congenital tumors. In: Keeling JW, Yee Khong T, eds. *Fetal and neonatal pathology*. 4<sup>th</sup> ed. Springer; 2007;327-378.
- Bonasoni MP, Comitini G, Barbieri V, Palicelli A, Salfi N, Pili G. Fetal presentation of mediastinal immature teratoma: ultrasound, autopsy and cytogenetic findings. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(9):1543. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11091543>
- Isaacs H Jr. Perinatal (fetal and neonatal) germ cell tumors. *J Pediatr Surg*. 2004;39(7):1003-1013. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2004.03.045>
- Heerema-McKenney A, Harrison MR, Bratton B, Farrell J, Zaloudek C. Congenital teratoma: a clinicopathologic study of 22 fetal and neonatal tumors. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(1):29-38. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000146006.46468.ef>
- Heifetz SA, Cushing B, Giller R, Shuster JJ, Stolar CJ, Vinocur CD, Hawkins EP. Immature teratomas in children: pathology considerations: a report from the combined Pediatric Oncology Group/Children's Cancer Group. *Am J Surg Pathol*. 1998;22(9):1115-1124. <https://doi.org/10.1097/00000478-199809000-00011>
- Terenziani M, D'Angelo P, Insera A, Boldrini R, Bisogno G, Babbo GL, Conte M, Dall'Igna P, De Pasquale MD, Indolfi P, et al. Mature and immature teratoma: a report from the second Italian pediatric study. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(7):1202-1208. <https://doi.org/10.1002/pbc.25423>

13. Lu-Boettcher YEL, Koppera P, Riegger LQ. Anesthetic management of a neonate with an intrapericardial teratoma: a case report. *Clin Case Rep.* 2020;8(12):3066-3069. <https://doi.org/10.1002/ccr3.3366>
14. Weber HS, Kleinman CS, Hellenbrand WE, Kopf GS, Copel C. Development of a benign intrapericardial tumor between 20 and 40 weeks of gestation. *Pediatr Cardiol.* 1988;9(3):153-156. <https://doi.org/10.1007/BF02080556>
15. Soor GS, Chakrabarti MO, Luk A, Abraham JR, Phillips K, Butany J. Prenatal intrapericardial teratomas: diagnosis and management. *Cardiovasc Pathol.* 2010;19(1):e1-4. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2008.07.003>
16. Uzun O, Wilson DG, Vujanic GM, Parsons JM, De Giovanni JV. Cardiac tumours in children. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2:11. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-2-11>
17. Giancotti A, La Torre R, Bevilacqua E, D'Ambrosio V, Pasquali G, Panici PB. Mediastinal masses: a case of fetal teratoma and literature review. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2012;39(3):384-387.
18. Yuan SM. Fetal intrapericardial teratomas: an update. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2020;224(4):187-193. <https://doi.org/10.1055/a-1114-6572>
19. Hawkins RB, Rosenberger LH, Swanson JC, Gangemi JJ, McGahren ED. Excision of an intrapericardial immature teratoma in a 26-week premature neonate. *J Pediatr Surg Case Rep.* 2016;10:29-31. <https://doi.org/10.1016/j.epsc.2016.04.026>
20. MacKenzie S, Loken S, Kalia N, Trevenen C, Harder J, Wong A, Sigalet D. Intrapericardial teratoma in the perinatal period. Case report and review of the literature. *J Pediatr Surg.* 2005;40(12):13-18. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2005.08.041>
21. Srisupundit K, Sukpan K, Tongsong T, Traisrisilp K. Prenatal sonographic features of fetal mediastinal teratoma. *J Clin Ultrasound.* 2020;48(7):419-422. <https://doi.org/10.1002/jcu.22876>

Поступила 10.06.2022

Received 10.06.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Роль ртути и мышьяка в этиологии и патогенезе болезней Паркинсона и Альцгеймера

© В.Н. САЛЬКОВ, Д.Н. ВОРОНКОВ, Р.М. ХУДОЕРКОВ

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Институт мозга, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Представлен критический обзор данных литературы о токсических воздействиях ртути и мышьяка на головной мозг человека и об их взаимосвязи с этиологией и патогенезом таких нейродегенеративных заболеваний, как болезни Паркинсона и Альцгеймера. В первом случае токсическое воздействие ртути и мышьяка на головной мозг стимулирует окислительный стресс, который приводит к образованию свободных форм кислорода и снижению антиоксидантной защиты нейронов. Во втором случае вредное воздействие ртути изменяет структуру и свойства  $\beta$ -амилоида, а токсическое влияние мышьяка способствует его накоплению. В патогенезе рассматриваемых заболеваний особое значение придают реакции астроцитов, инициирующих нейровоспаление, которая характерна также и при интоксикации ртутью и мышьяком. Если учесть, что симптомы, регистрируемые при интоксикации ртутью и мышьяком, во многом сходны с таковыми болезни Паркинсона и Альцгеймера, а их патогенетические механизмы (окислительный стресс и нейровоспаление) совпадают, то токсическое действие ртути и мышьяка при нейродегенеративных заболеваниях, анализируемых в настоящем обзоре, можно охарактеризовать как влияние наиболее значимых факторов риска.

**Ключевые слова:** нейродегенерация, головной мозг, ртуть, мышьяк, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сальков В.Н. — <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Воронков Д.Н. — <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Худоерков Р.М. — <https://orcid.org/0000-0002-6951-3918>

**Автор, ответственный за переписку:** Сальков В.Н. — e-mail: [vla-salkov@yandex.ru](mailto:vla-salkov@yandex.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Сальков В.Н., Воронков Д.Н., Худоерков Р.М. Роль ртути и мышьяка в этиологии и патогенезе болезней Паркинсона и Альцгеймера. *Архив патологии*. 2022;84(5):59–64. <https://doi.org/10.17116/patol20228405159>

## The role of mercury and arsenic in the etiology and pathogenesis of Parkinson's and Alzheimer's diseases

© V.N. SALKOV, D.N. VORONKOV, R.M. KHUDOERKOV

Research Center of Neurology, Brain Institute, Moscow, Russia

### ABSTRACT

A critical review of literature data on the toxic effects of mercury and arsenic on the human brain and their relationship with the etiology and pathogenesis of neurodegenerative diseases such as Parkinson's and Alzheimer's diseases is presented. In the first case, the toxic effect of mercury and arsenic on the brain stimulates oxidative stress, which leads to the formation of free oxygen species and a decrease in the antioxidant defense of neurons. In the second case, the harmful effect of mercury changes the structure and properties of  $\beta$ -amyloid, and the toxic effect of arsenic contributes to its accumulation. In the pathogenesis of the diseases under consideration, particular importance is attached to the reaction of astrocytes that initiate neuroinflammation, which is also characteristic of mercury and arsenic intoxication. Considering that the symptoms recorded during intoxication with mercury and arsenic are in many respects similar to those of Parkinson's and Alzheimer's diseases, and their pathogenetic mechanisms (oxidative stress and neuroinflammation) coincide, then the toxic effects of mercury and arsenic in neurodegenerative diseases analyzed in this review can be characterized as the influence of the most significant risk factors.

**Keywords:** neurodegeneration, brain, mercury, arsenic, Parkinson's disease, Alzheimer's disease.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Salkov V.N. — <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Voronkov D.N. — <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Khudoerkov R.M. — <https://orcid.org/0000-0002-6951-3918>

**Corresponding author:** Salkov V.N. — e-mail: [vla-salkov@yandex.ru](mailto:vla-salkov@yandex.ru)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Salkov VN, Voronkov DN, Khudoerkov RM. The role of mercury and arsenic in the etiology and pathogenesis of Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Archive of Pathology = Arkhir patologii*. 2022;84(5):59–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228405159>

Среди нейродегенеративных заболеваний, диагностируемых в пожилом возрасте, наиболее распространены болезни Паркинсона (БП) и Альцгеймера (БА) [1]. Оба заболевания характеризуются неблагоприятным исходом, который в случае БП проявляется стойким нарушением двигательной активности и инвалидизацией [2], а при БА — нарастанием когнитивных расстройств вплоть до деменции и высокой смертностью [3].

Патоморфологическим субстратом БП являются накопление фосфорилированного альфа-синуклеина — патологически измененного белка в телах нейронов (тельца Леви) и их отростках (нейриты Леви) — и гибель значительного количества дофаминовых нейронов в черном веществе головного мозга на ранних стадиях заболевания [4]. БА патоморфологически характеризуется накоплением в структурах головного мозга аномальных форм белков: бета-амилоида и тау-белка, которые образуют вне- и внутриклеточные агрегаты соответственно, что приводит к гибели нейронов [5]. По данным литературы [6], при нейродегенеративных заболеваниях нарушается формирование третичной структуры (фолдинг) белков, что вызвано окислительным стрессом, который возникает при нарушении метаболизма металлов. Среди этих металлов различают биометаллы, необходимые для формирования и функционирования головного мозга (железо, кальций, цинк, медь и др.), и токсичные металлы, в норме не включаемые в биологические процессы и пагубно влияющие на головной мозг и организм в целом (ртуть, свинец, кадмий и алюминий) [7]. Нарушение обмена биометаллов в формировании патологических субстратов при БП и БА в литературе охарактеризовано достаточно полно, а роль токсичных металлов показана явно недостаточно. Среди последних особое внимание при изучении влияния на головной мозг в контексте инициации и течения нейродегенеративного процесса уделяют ртути и мышьяку — металлоиду, сочетающему химические свойства металлов и неметаллов [8]. В литературе [9] показано, что острая интоксикация этими микроэлементами вызывает у пациентов двигательные нарушения, сходные с таковыми при паркинсонизме, и существенные когнитивные расстройства, аналогичные тем, которые развиваются при БА. Другие исследователи предполагают, что хроническая интоксикация ртутью или мышьяком в субклинической дозе может являться одним из основных этиологических факторов БП [10].

Цель работы — проанализировать данные литературы о влиянии токсичных элементов (ртути и мышьяка) на формирование морфохимических изменений в головном мозге человека и лабораторных животных и оценить связь этих изменений с этиопатогенезом БП и БА.

## Роль ртути в этиопатогенезе БП

Ртуть присутствует в воздухе, почве и воде в виде органических и неорганических соединений [11]. Последние, являясь более токсичными, чем первые, при попадании в организм человека проникают через гематоэнцефалический барьер и транспортируются в головной мозг [12]. Соединения ртути, как и других металлов, переносятся через гематоэнцефалический барьер при помощи транспортеров. Они образуют комплекс с L-цистеином, который, имитируя метионин, обеспечивает их транспорт. В головном мозге соединения ртути препятствуют физиологическому течению внутриклеточных процессов. Они снижают активность эндоплазматического ретикула и рибосом,

затрудняют синтез ДНК и белков [13], при этом, ингибируя метиониновые связи металлопротеинов, высвобождая свободную форму меди, которая отличается высокой токсичностью и нарушает функцию медь-, цинк-содержащей супероксиддисмутазы (Cu-SOD, Zn-SOD) — фермента, регулирующего содержание активных форм кислорода в клетках и являющегося важным компонентом антиоксидантной защиты нервной ткани [14]. Кроме того, соединения ртути могут ингибировать важные этапы синтеза митохондриального гемоглобина, а в высокой концентрации — экспрессию мРНК [15].

Показано, что у лиц при длительном воздействии ртутью (зубные пломбы из амальгамы) заболеваемость БП была в 6 раз выше, чем у не подвергавшихся такому воздействию [16]. У врача-стоматолога 47 лет был диагностирован паркинсонизм на основании клинической симптоматики (тремор покоя и феномен «зубчатого колеса») и результата анализа мочи, показавшего наличие ртути; терапия агентами, хелатирующими ртуть, улучшила клиническое состояние больного [17]. У дантистов и ассистентов стоматолога, работа которых была связана с материалом, содержащим ртуть, отмечается повышенная смертность от БП и деменции [18]. Сообщается, что у мужчины, проработавшего на заводе по производству хлора 30 лет и в течение этого периода подвергавшегося интоксикации ртутью, развился паркинсонизм [19]. Предполагают, что БП у лиц, испытавших хроническую интоксикацию ртутью, связана не столько с ее непосредственным влиянием, сколько с нарушением регуляции или истощением внутриклеточного трипептида глутатиона [20]. В естественных условиях тяжелые металлы выводятся из организма, конъюгируясь с глутатионом, а при изменении этих условий, например при старении, внутриклеточное содержание этого трипептида снижается, что способствует накоплению ртути в нервной ткани.

Накопление ртути исследовали методом аутометаллографии в структурах медиального и латерального колленчатых тел головного мозга (на аутопсийных образцах) 50 людей с неврологической патологией и психическими расстройствами [21]. Ртуть обнаруживали в нейронах, олигодендрокитах, астроцитах и эндотелиальных клетках капилляров. По мнению авторов, накопление ртути нарушало функцию колленчатых тел, что способствовало появлению зрительных и слуховых нарушений, которые могут сопутствовать диагнозу основного заболевания у больных с неврологической патологией и психическими расстройствами. Метод аутометаллографии в сочетании с методами иммуногистохимии, позволяющими выявить отложения альфа-синуклеина и локализацию глиальных клеток, использовали при исследовании аутопсийного материала головного мозга больных с БП, лиц, перенесших хроническую интоксикацию ртутью, а также у тех, у кого при жизни не выявляли неврологическую симптоматику, и у лиц, не подвергавшихся воздействию ртутью (контрольная группа) [22]. В результате показано, что при БП ртуть определялась в нейронах черного вещества, двигательной области коры, стриатума, таламуса и мозжечка, а также в олигодендрокитах белого вещества и мозжечка. Ртуть, обнаруживаемая в нейронах, локализовалась в клетках, не только содержащих тельца Леви (альфа-синуклеин), но и без таковых. У людей, имевших в анамнезе указание на интоксикацию ртутью, и лиц из группы контроля распределение ртути в структурах головного мозга имело ограниченный характер: в первой группе ее определяли преимущественно в нейронах голубого пятна, латерального колленчатого тела и ядре

блокового нерва, а в контрольной группе — в нейронах латерального колчатого тела и зубчатом ядре мозжечка. В этих двух группах ртуть не обнаруживали в структурах черного вещества, стриатуме и таламусе, поражение которых может вызывать характерную для БП симптоматику.

### Роль мышьяка в этиопатогенезе БП

Неорганические соединения мышьяка более токсичны, чем органические [23]. Триоксид мышьяка ( $As_2O_3$ ) — наиболее распространенная неорганическая форма мышьяка, которая содержится в воздухе, в то время как другие неорганические формы — арсенаты ( $AsO_4^{3-}$ ) и арсениты ( $AsO_2^-$ ) менее распространены и содержатся в воде, почве и пищевых продуктах [24]. Кроме этих соединений мышьяка, широко распространен арсенид галлия ( $GaAs$ ), который используется в электронной промышленности, но токсичен для организма человека [23]. Метилированные формы мышьяка по своему воздействию на человеческий организм менее вредны, чем его неорганические формы [25]. Их источником в основном являются морепродукты, рис, мясо птицы и грибы. Вместе с тем некоторые из органических соединений мышьяка чрезмерно токсичны [26]. Так, в эксперименте было показано, что астроциты коры головного мозга, подвергавшиеся острому воздействию монометиларсиновой кислоты, демонстрировали повышенную экспрессию генов провоспалительных цитокинов.

Токсическое действие мышьяка на нервную систему осуществляется двумя путями [27]. В первом случае, нарушая целостность цитоскелета нейронов, мышьяк снижает скорость проведения нервных импульсов, что клинически проявляется в форме периферических нейропатий. Во втором случае он вызывает нейротоксичность за счет индукции апоптоза в нейронах головного мозга путем активации путей митогенактивируемой протеинкиназы Р38 и N-концевых киназ с-Jun. В этом случае, увеличивая высвобождение активных форм кислорода, он способствует развитию окислительного стресса, который в свою очередь приводит к снижению экспрессии ферментов антиоксидантной защиты нейронов (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатион S-трансферазы и др.) и развитию дегенеративных изменений дофаминовых нейронов [28]. Продолжительное действие мышьяка обуславливает значительное снижение уровня моноаминов в лобной области коры, полосатом теле и гиппокампе [29]. Кроме того, хроническая интоксикация, развивающаяся в головном мозге при продолжительном поступлении мышьяка в организм, приводит к дисбалансу внутриклеточного содержания ионов кальция, митохондриальным нарушениям, нарушению синтеза аденозинтрифосфата, изменению мембранного потенциала митохондрий и гибели нейронов [30].

У крыс, которые 16 нед подвергались воздействию арсенида натрия, содержавшегося в питьевой воде, снижалась концентрация в центральной нервной системе таких нейротрансмиттеров, как дофамин, норадреналин и 5-гидрокситриптамин [31]. В исследовании, проведенном на Тайване, изучалась корреляционная связь между высоким содержанием токсичных химических элементов в почве и распространенностью БП. В результате установлено, что из всех изученных токсинов только содержание мышьяка коррелировало с высокой заболеваемостью БП в этом регионе, составившей от 83 до 213 случаев на 100 000 населения [32].

Концентрация мышьяка в цереброспинальной жидкости у лиц с БП была достоверно выше, чем в контрольной группе, которую составляли пациенты без неврологической симптоматики [33]. Вместе с тем концентрация мышьяка в аутопсийных образцах головного мозга больных БП, определяемая методом нейтронно-активационного анализа, была более низкой, чем в контроле [34]. Подобный результат, вероятно, можно объяснить тем, что астроциты первыми из клеток головного мозга поглощают мышьяк, который поступает через гематоэнцефалический барьер, и сами же элиминируют его из мозга [35]. Наиболее вероятной причиной, которая способствует поддержанию постоянной концентрации мышьяка в астроцитах, является быстрое установление равновесия между поглощением клетками арсенида или арсената и элиминацией этих неорганических форм мышьяка из клеток [36].

Следовательно, последующее снижение поступления соединений мышьяка в клетки головного мозга будет приводить к снижению его концентрации в мозге, а основные клеточные изменения будут инициированы теми биохимическими изменениями, которым подвергнутся астроциты (снижение содержания глутатиона, увеличение гликолитического лактата и др.).

### Связь между интоксикацией, вызываемой ртутью и мышьяком, и развитием БА

Клиническая картина, наблюдаемая при БА и хронической интоксикации ртутью, характеризуется сходной симптоматикой, проявляющейся в первую очередь со стороны когнитивной и двигательной-рефлекторной сфер [37]. В настоящее время показано, что большинство морфофункциональных изменений, развивающихся в организме человека при этих патологических состояниях, имеет сходную картину [38]. В основе этих изменений лежит накопление соединений ртути в организме, концентрация которых в крови пациентов с БА в 2 раза выше, чем у людей без нейродегенеративных расстройств [39]. Кроме того, при моделировании БА на лабораторных животных показано, что ртуть накапливается в структурах конечного мозга [40]. Подобные изменения выявляют в аналогичных структурах головного мозга (затылочная доля) у пожилых людей [41].

Механизм развития БА при накоплении ртути в структурах головного мозга, вероятно, связан с тем, что ее соединения могут взаимодействовать с бета-амилоидным пептидом А $\beta$ -42 и образовывать на его основе крупные аморфные нерастворимые агрегаты, т.е. ртуть может изменять агрегацию этого пептида [42]. Ионы ртути (II) могут также взаимодействовать с N-концевой областью бета-амилоида через остатки гистидина (His-6, His-13, His-14), демонстрируя способ, который характерен для связывания с этой областью ионов меди (II) и цинка (II). Следовательно, как и ионы биометаллов (железа, меди, цинка и кальция), ионы ртути (II) способны связываться с бета-амилоидными пептидами и модулировать процессы их агрегации [43]. Наряду с тем, что присутствие ртути повышает образование аморфных нерастворимых форм бета-амилоидных пептидов, ее высокие концентрации вызывают гиперфосфорилирование тау-протеина [44]. Изменение химической структуры тау-протеина нарушает его функции, что усиливает нейродегенеративный процесс [10].

Другим возможным механизмом токсического воздействия соединений ртути на головной мозг в контексте патогенеза БА является активация нейтроглии. При длительном воздействии ртутью на культуры клеток головного мозга в них обнаруживаются реактивная микроглия и астроциты, что предшествует морфологическим повреждениям нейронов [45]. Подобное воздействие ртути на организм человека происходит у людей, занимающихся очисткой золота, в крови которых определяют более высокую концентрацию провоспалительных цитокинов, чем у лиц, не подвергавшихся воздействию ртутью [46]. Хроническая интоксикация ртутью у рабочих вредных производств может приводить к аутоиммунной дисфункции с сопутствующим нейровоспалением, напоминая упомянутую воспалительную реакцию при отравлении ртутью у людей, занимающихся очисткой золота [46]. Подобная реакция на интоксикацию ртутью — активация цитокиновых каскадов с вовлечением аутоиммунного ответа, а также стимуляция экспрессии циклооксигеназы-2 и NO-синтазы [47] — может усиливать нейровоспаление и нейродегенерацию при БА.

В качестве фактора риска развития БА может выступать интоксикация не только ртутью и ее соединениями, но и мышьяком. Связь между интоксикацией мышьяком в результате употребления питьевой воды и нарушением памяти показана как в эксперименте [48], так и при клиническом обследовании пожилых людей [49]. Установлено, что в странах с высоким содержанием мышьяка в почве (Италия, Швейцария, Испания, Франция, Бельгия и Норвегия) по сравнению со странами с низким его содержанием в почве (Люксембург, Дания, Финляндия, Великобритания) распространенность деменции среди населения, в том числе обусловленной БА, значительно выше [50]. В то же время отмечена отрицательная корреляционная зависимость между концентрацией мышьяка в сыворотке крови и когнитивными способностями у пациентов с БА [51].

Ключевым звеном в ослаблении памяти и когнитивных функций, обусловленным вредным воздействием мышьяка, является нарушение амилоидного обмена [5]. На культуре клеток показано, что в холинергических нейронах, инкубированных на протяжении 12–24 ч с арсенидом натрия или органической формой диметиларсиновой кислоты в количестве 5–10 мкмоль, увеличивалось содержа-

ние как белка — предшественника бета-амилоида (APP), так и самого бета-амилоида [52]. Подобная повышенная экспрессия APP выявлена этими же авторами в нейронах мышей линии Tg2576, которые подвергались токсическому воздействию арсенида натрия. Кроме того, установлено, что при интоксикации мышьяком наряду с накоплением APP в нейронах в астроцитах ингибируется клиренс глутамата вследствие подавления экспрессии глутаминсинтетазы. В связи с этим нарушение взаимоотношения между содержанием глутамата и ГАМК-глутаминина в астроцитах некоторые исследователи считают основным механизмом нейротоксичности, индуцированной мышьяком [53].

## Заключение

Идиопатические формы БП, обусловленные мутациями в генах *SNCA*, *LRRK2*, *GBA*, *PINK1* и *PARK2* и подтвержденные клинически отягощенным семейным анамнезом, свидетельствуют о роли наследственности в этиологии этого заболевания и составляют не более 10% от общего количества всех его случаев [54]. Распространенность генетически обусловленной пресенильной формы БА 1–6% от всех случаев заболевания, а при сенильной форме БА генетическая компонента составляет 58–79% [55]. В остальных случаях причины БП и БА остаются до конца не выясненными. Вместе с тем представленный анализ источников литературы свидетельствует, что при БП и БА ртуть накапливается в структурах головного мозга, а мышьяк, поступая в них, элиминируется астроцитами. Кроме того, наш анализ свидетельствует также о том, что биохимические и морфологические изменения, развивающиеся в головном мозге при интоксикации ртутью и мышьяком, во многом совпадают с теми изменениями, которые характерны для БП и БА. Учитывая, что клиническая симптоматика при интоксикации ртутью и мышьяком во многом коррелирует с симптомами рассматриваемых нейродегенеративных заболеваний, а их патогенетические механизмы (окислительный стресс и нейровоспаление) совпадают, можно охарактеризовать роль токсического воздействия ртути и мышьяка при БП и БА как влияние наиболее значимых факторов риска.

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

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Wareham LK, Liddel SA, Temple S, Benowitz LI, Di Polo A, Wellington C, Goldberg JL, He Z, Duan X, Bu G, Davis AA, Shekhar K, Torre A, Chan DC, Canto-Soler MV, Flanagan JG, Subramanian P, Rossi S, Brunner T, Bovenkamp DE, Calkins DJ. Solving neurodegeneration: common mechanisms and strategies for new treatments. *Mol Neurodegener.* 2022;17(1):23. <https://doi.org/10.1186/s13024-022-00524-0>
- Тимофеева А.А., Белозерцева И.И. Вопросы медико-социальной экспертизы при болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016;116(9):93–97. Timofeeva AA, Belozertseva II. The issues of medical/social expertise in Parkinson's disease. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii im. S.S. Korsakova.* 2016;116(9):93–97. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro20161169193-97>
- World Health Organization. World Health Statistics 2020: monitoring the health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization; 2020. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332070>
- Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2011;5(4):46–51. Pchelina SN. Alpha-synuclein as a biomarker of Parkinson's disease. *Annaly klinicheskoi i eksperimental'noi nevrologii.* 2011;5(4):46–51. (In Russ.).
- Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:124. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00124>

6. Jomova K, Vondrakova D, Lawson M, Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol Cell Biochem.* 2010; 345(1-2):91-104. <https://doi.org/10.1007/s11010-010-0563-x>
7. Li Y, Jiao Q, Xu H, Du X, Shi L, Jia F, Jiang H. Biometal dyshomeostasis and toxic metal accumulations in the development of Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:339. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00339>
8. Roe K. An alternative explanation for Alzheimer's disease and Parkinson's disease initiation from specific antibiotics, gut microbiota dysbiosis and neurotoxins. *Neurochem Res.* 2022;47(3):517-530. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03467-y>
9. Carpenter DO. Effects of metals on the nervous system of humans and animals. *Int J Occup Med Environ Health.* 2001;14(3):209-218.
10. Monnet-Tschudi F, Zurich MG, Boschat C, Corbaz A, Honegger P. Involvement of environmental mercury and lead in the etiology of neurodegenerative diseases. *Rev Environ Health.* 2006;21(2):105-117. <https://doi.org/10.1515/revh.2006.21.2.105>
11. Rice KM, Walker EM Jr, Wu M, Gillette C, Blough ER. Environmental mercury and its toxic effects. *J Prev Med Public Health.* 2014;47(2):74-83. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.2.74>
12. Yokel RA. Blood-brain barrier flux of aluminum, manganese, iron and other metals suspected to contribute to metal-induced neurodegeneration. *J Alzheimers Dis.* 2006;10(2-3):223-253. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-102-309>
13. Jan AT, Azam M, Siddiqui K, Ali A, Choi I, Haq QM. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants. *Int J Mol Sci.* 2015;16(12):29592-29630. <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>
14. Sharma B, Singh S, Siddiqi NJ. Biomedical implications of heavy metals induced imbalances in redox systems. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:640754. <https://doi.org/10.1155/2014/640754>
15. Echeverria D, Woods JS, Heyer NJ, Rohlman D, Farin FM, Li T, Garabedian CE. The association between a genetic polymorphism of coproporphyrinogen oxidase, dental mercury exposure and neurobehavioral response in humans. *Neurotoxicol Teratol.* 2006;28(1):39-48. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2005.10.006>
16. Pierozan P, Biasibetti H, Schmitz F, Ávila H, Fernandes CG, Pessoa-Pureur R, Wyse ATS. Neurotoxicity of methylmercury in isolated astrocytes and neurons: the cytoskeleton as a main target. *Mol Neurobiol.* 2017;54(8):5752-5767. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0101-2>
17. Finkelstein Y, Vardi J, Kesten MM, Hod I. The enigma of parkinsonism in chronic borderline mercury intoxication, resolved by challenge with penicillamine. *Neurotoxicology.* 1996;17(1):291-295.
18. Schulte PA, Burnett CA, Boeniger MF, Johnson J. Neurodegenerative diseases: occupational occurrence and potential risk factors, 1982 through 1991. *Am J Public Health.* 1996;86(9):1281-1288. <https://doi.org/10.2105/ajph.86.9.1281>
19. Ngim C, Devathanan G. Epidemiologic study on the association between body burden mercury level and idiopathic Parkinson's disease. *Neuroepidemiology.* 1989;8(3):128-141. <https://doi.org/10.1159/000110175>
20. Ballatori N, Krance SM, Notenboom S, Shi S, Tieu K, Hammond CL. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol Chem.* 2009;390(3):191-214. <https://doi.org/10.1515/BC.2009.033>
21. Pamphlett R, Kum Jew S, Doble PA, Bishop DP. Elemental imaging shows mercury in cells of the human lateral and medial geniculate nuclei. *PLoS One.* 2020;15(4):e0231870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231870>
22. Pamphlett R, Bishop DP. Mercury is present in neurons and oligodendrocytes in regions of the brain affected by Parkinson's disease and co-localises with Lewy bodies. *PLoS One.* 2022;17(1):e0262464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262464>
23. Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 2011;283(2-3):65-87. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>
24. Ding W, Hudson LG, Liu KJ. Inorganic arsenic compounds cause oxidative damage to DNA and protein by inducing ROS and RNS generation in human keratinocytes. *Mol Cell Biochem.* 2005;279(1-2):105-112. <https://doi.org/10.1007/s11010-005-8227-y>
25. Mandal BK. Arsenic round the world: a review. *Talanta.* 2002; 58(1):201-235.
26. Escudero-Lourdes C, Uresti-Rivera EE, Oliva-González C, Torres-Ramos MA, Aguirre-Bañuelos P, Gandolfi AJ. Cortical astrocytes acutely exposed to the monomethylarsonous acid (MMAIII) show increased pro-inflammatory cytokines gene expression that is consistent with APP and BACE-1: over-expression. *Neurochem Res.* 2016;41(10):2559-2572. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1968-z>
27. Raj K, Kaur P, Gupta GD, Singh S. Metals associated neurodegeneration in Parkinson's disease: insight to physiological, pathological mechanisms and management. *Neurosci Lett.* 2021;753:135873. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135873>
28. Singh AP, Goel RK, Kaur T. Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicol Int.* 2011;18(2):87-93. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.84258>
29. Tyler CR, Allan AM. The effects of arsenic exposure on neurological and cognitive dysfunction in human and rodent studies: a review. *Curr Environ Health Rep.* 2014;1(2):132-147. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0012-1>
30. Prakash C, Soni M, Kumar V. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in arsenic neurotoxicity: a review. *J Appl Toxicol.* 2016;36(2):179-188. <https://doi.org/10.1002/jat.3256>
31. Kannan GM, Tripathi N, Dube SN, Gupta M, Flora SJ. Toxic effects of arsenic (III) on some hematopoietic and central nervous system variables in rats and guinea pigs. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2001;39(7):675-682. <https://doi.org/10.1081/clt-100108508>
32. Lee CP, Zhu CH, Su CC. Increased prevalence of Parkinson's disease in soils with high arsenic levels. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021;88:19-23. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.05.029>
33. Maass F, Michalke B, Leha A, Boerger M, Zerr I, Koch JC, Tönges L, Bähr M, Lingor P. Elemental fingerprint as a cerebrospinal fluid biomarker for the diagnosis of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2018;145(4):342-351. <https://doi.org/10.1111/jnc.14316>
34. Larsen NA, Pakkenberg H, Damsgaard E, Heydorn K, Wold S. Distribution of arsenic, manganese, and selenium in the human brain in chronic renal insufficiency, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 1981;51(3):437-446. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(81\)90120-9](https://doi.org/10.1016/0022-510x(81)90120-9)
35. Dringen R, Spiller S, Neumann S, Koehler Y. Uptake, metabolic effects and toxicity of arsenate and arsenite in astrocytes. *Neurochem Res.* 2016;41(3):465-475. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1570-9>
36. Koehler Y, Luther EM, Meyer S, Schwerdtle T, Dringen R. Uptake and toxicity of arsenite and arsenate in cultured brain astrocytes. *J Trace Elem Med Biol.* 2014;28(3):328-337. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.04.007>
37. Chang JW, Pai MC, Chen HL, Guo HR, Su HJ, Lee CC. Cognitive function and blood methylmercury in adults living near a deserted chloralkali factory. *Environ Res.* 2008;108(3):334-339. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.06.006>

38. Siblerud R, Mutter J, Moore E, Naumann J, Walach H. A hypothesis and evidence that mercury may be an etiological factor in Alzheimer's disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(24):5152. <https://doi.org/10.3390/ijerph16245152>
39. Hock C, Drasch G, Golombowski S, Müller-Spahn F, Willershausen-Zönnchen B, Schwarz P, Hock U, Growdon JH, Nitsch RM. Increased blood mercury levels in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 1998;105(1):59-68. <https://doi.org/10.1007/s007020050038>
40. Monnet-Tschudi F, Zurich MG, Honegger P. Comparison of the developmental effects of two mercury compounds on glial cells and neurons in aggregate cultures of rat telencephalon. *Brain Res*. 1996;741(1-2):52-59. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(96\)00895-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(96)00895-5)
41. Weiner JA, Nylander M. The relationship between mercury concentration in human organs and different predictor variables. *Sci Total Environ*. 1993;138(1-3):101-115. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(93\)90408-x](https://doi.org/10.1016/0048-9697(93)90408-x)
42. Meleleo D, Notarachille G, Mangini V, Arnesano F. Concentration-dependent effects of mercury and lead on Aβ42: possible implications for Alzheimer's disease. *Eur Biophys J*. 2019;48(2):173-187. <https://doi.org/10.1007/s00249-018-1344-9>
43. Wallin C, Friedemann M, Sholts SB, Noormägi A, Svantesson T, Jarvet J, Roos PM, Palumaa P, Gräslund A, Wärmländer SKTS. Mercury and Alzheimer's disease: Hg(II) ions display specific binding to the amyloid-β peptide and hinder its fibrillization. *Biomolecules*. 2019;10(1):44. <https://doi.org/10.3390/biom10010044>
44. Olivieri G, Brack C, Müller-Spahn F, Stähelin HB, Herrmann M, Renard P, Brockhaus M, Hock C. Mercury induces cell cytotoxicity and oxidative stress and increases beta-amyloid secretion and tau phosphorylation in SHSY5Y neuroblastoma cells. *J Neurochem*. 2000;74(1):231-236. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0740231.x>
45. Eskes C, Honegger P, Juillerat-Jeanneret L, Monnet-Tschudi F. Microglial reaction induced by noncytotoxic methylmercury treatment leads to neuroprotection via interactions with astrocytes and IL-6 release. *Glia*. 2002;37(1):43-52. <https://doi.org/10.1002/glia.10019>
46. Gardner RM, Nyland JF, Silva IA, Ventura AM, de Souza JM, Silbergeld EK. Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: a cross-sectional study. *Environ Res*. 2010;110(4):345-354. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.02.001>
47. Park HJ, Youn HS. Mercury induces the expression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. *Toxicol Ind Health*. 2013;29(2):169-174. <https://doi.org/10.1177/0748233711427048>
48. Ramos-Chávez LA, Rendón-López CR, Zepeda A, Silva-Adaya D, Del Razo LM, Gonsebatt ME. Neurological effects of inorganic arsenic exposure: altered cysteine/glutamate transport, NMDA expression and spatial memory impairment. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:21. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00021>
49. O'Bryant SE, Edwards M, Menon CV, Gong G, Barber R. Long-term low-level arsenic exposure is associated with poorer neuropsychological functioning: a Project FRONTIER study. *Int J Environ Res Public Health*. 2011;8(3):861-874. <https://doi.org/10.3390/ijerph8030861>
50. Dani SU. Arsenic for the fool: an exponential connection. *Sci Total Environ*. 2010;408(8):1842-1846. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.027>
51. Baum L, Chan IHS, Cheung SKK, Goggins WB, Mok V, Lam L, Leung V, Hui E, Ng C, Woo J, et al. Serum zinc is decreased in Alzheimer's disease and serum arsenic correlates positively with cognitive ability. *Biometals*. 2010;23(1):173-179. <https://doi.org/10.1007/s10534-009-9277-5>
52. Zarazúa S, Bürger S, Delgado JM, Jiménez-Capdeville ME, Schliebs R. Arsenic affects expression and processing of amyloid precursor protein (APP) in primary neuronal cells overexpressing the Swedish mutation of human APP. *Int J Dev Neurosci*. 2011;29(4):389-396. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.03.004>
53. Zhao F, Liao Y, Jin Y, Li G, Lv X, Sun G. Effects of arsenite on glutamate metabolism in primary cultured astrocytes. *Toxicol In Vitro*. 2012;26(1):24-31. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.10.003>
54. Pang SYY, Ho PWL, Liu HF, Leung CT, Li L, Chang EES, Ramsden DB, Ho SL. The interplay of aging, genetics and environmental factors in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Transl Neurodegener*. 2019;8:23. <https://doi.org/10.1186/s40035-019-0165-9>
55. Robinson M, Lee BY, Hane FT. Recent progress in Alzheimer's disease research, Part 2: Genetics and Epidemiology. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(2):317-330. <https://doi.org/10.3233/JAD-161149>

Поступила 17.05.2022

Received 17.05.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Эпителиально-стромальные взаимодействия в аденокарциноме поджелудочной железы: роль стромы в прогрессировании заболевания

© А.В. КУЗНЕЦОВА<sup>1,2</sup>, О.П. ПОПОВА<sup>1</sup>, Д.А. АСТАХОВ<sup>1</sup>, Ю.В. ИВАНОВ<sup>1</sup>, Д.Н. ПАНЧЕНКОВ<sup>1</sup>, А.А. ИВАНОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» Российской академии наук, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (англ. pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) является наиболее распространенной и трудно поддающейся лечению формой рака указанной локализации. PDAC и другие солидные виды рака содержат как опухолевые клетки, так и нормальные клетки соединительной ткани, называемые стромальными клетками, которые ответственны за избыточную продукцию внеклеточного матрикса. Как известно, более чем в 90% опухолей PDAC и при многих других видах рака наблюдаются мутации гена *KRAS*, реципрокная передача сигналов которого показана между опухолевыми и стромальными клетками *in vitro*. Стромальные звездчатые клетки поджелудочной железы считаются предшественниками активированных или опухолеассоциированных фибробластов (CAFs), которые представляют собой увеличивающуюся популяцию клеток, размножающихся *in situ* или рекрутируемых в опухоль. CAFs — это неоднородная популяция стромальных фибробластов с различными молекулярными профилями, изменяемыми во время туморогенеза. В строме одной опухоли могут сосуществовать как иммуносупрессивные, так и иммуноподдерживающие субпопуляции CAFs. На основании профилирования экспрессии генов неопластических клеток и клеток опухолевого микроокружения для выбора лучшего метода лечения предпринимаются попытки классифицировать PDAC на молекулярные подтипы.

**Ключевые слова:** протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, опухолевое микроокружение, опухолеассоциированные фибробласты, межопухолевая строма.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кузнецова А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-9567-351X>

Попова О.П. — <https://orcid.org/0000-0003-0614-3486>

Астахов Д.А. — e-mail: [astakhovd@mail.ru](mailto:astakhovd@mail.ru)

Иванов Ю.В. — e-mail: [ivanovkb83@yandex.ru](mailto:ivanovkb83@yandex.ru)

Панченков Д.Н. — e-mail: [dnpanchenkov@mail.ru](mailto:dnpanchenkov@mail.ru)

Иванов А.А. — <https://orcid.org/0000-0001-5722-6922>

Автор ответственный за переписку: Иванов А.А. — e-mail: [butivanov@yandex.ru](mailto:butivanov@yandex.ru)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Кузнецова А.В., Попова О.П., Астахов Д.А., Иванов Ю.В., Панченков Д.Н., Иванов А.А. Эпителиально-стромальные взаимодействия в аденокарциноме поджелудочной железы: роль стромы в прогрессировании заболевания. *Архив патологии*. 2022;84(5):65–70. <https://doi.org/10.17116/patol20228405165>

## Epithelial-stromal interactions in pancreatic adenocarcinoma: the role of stroma in disease progression

© A.V. KUZNETSOVA<sup>1,2</sup>, O.P. POPOVA<sup>1</sup>, D.A. ASTAKHOV<sup>1</sup>, Y.V. IVANOV<sup>1</sup>, D.N. PANCHENKOV<sup>1</sup>, A.A. IVANOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology, Moscow, Russia

### ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common and difficult to treat form of pancreas cancer. PDAC and other solid cancers contain both tumor cells and normal connective tissue cells called stromal cells, which are responsible for the excess production of extracellular matrix. It is known that in more than 90% of PDAC tumors and in many other types of cancer, mutations of the *KRAS* gene are observed, the reciprocal signaling of which has been shown between tumor and stromal cells *in vitro*. Pancreatic stromal stellate cells are considered precursors of activated or tumor-associated fibroblasts (CAFs), which are an increasing population of cells that proliferate *in situ* or are recruited into the tumor. CAFs are a heterogeneous population of stromal fibroblasts with different molecular profiles that change during tumorigenesis. Both immunosuppressive and immunosuppressive subsets of CAFs can coexist in the stroma of a single tumor. Based on the heterogeneity of the intertumor stroma, attempts are being made to classify PDAC and predict the course of the disease.

**Keywords:** pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC, tumor microenvironment, cancer-associated fibroblasts, CAFs, inter-tumor stroma.

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Kuznetsova A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-9567-351X>

Popova O.P. — <https://orcid.org/0000-0003-0614-3486>

Astakhov D.A. — e-mail: [astakhovd@mail.ru](mailto:astakhovd@mail.ru)

Ivanov Y.V. — e-mail: [ivanovkb83@yandex.ru](mailto:ivanovkb83@yandex.ru)

Panchenkov D.N. — e-mail: [dnpanchenkov@mail.ru](mailto:dnpanchenkov@mail.ru)

Ivanov A.A. — <https://orcid.org/0000-0001-5722-6922>

Corresponding author: Ivanov A.A. — e-mail: [butivanov@yandex.ru](mailto:butivanov@yandex.ru)

## TO CITE THIS ARTICLE:

Kuznetsova AV, Popova OP, Astakhov DA, Ivanov YV, Panchenkov DN, Ivanov AA. Epithelial-stromal interactions in pancreatic adenocarcinoma: the role of stroma in disease progression. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(5):65–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/ptol20228405165>

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (англ. pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) является наиболее распространенной формой рака поджелудочной железы и одним из самых смертельных и трудно поддающихся лечению видов рака у человека. Рак поджелудочной железы и другие солидные виды рака содержат как опухолевые клетки, так и нормальные клетки соединительной ткани, называемые стромальными клетками, которые ответственны за избыточную продукцию внеклеточного матрикса (ВКМ). Согласно результатам последних исследований, эти два типа клеток участвуют в двустороннем молекулярном диалоге, который играет важную роль в росте и прогрессировании рака.

Как известно, более чем в 90% опухолей PDAC и при многих других видах рака наблюдаются мутации гена *KRAS* [1]. При этом наличие мутации в кодоне G12D *KRAS* в первичной опухоли пациентов с местно-распространенным и/или метастатическим PDAC имеет худший прогноз независимо от того, получали они химиотерапию или нет [2, 3]. На генно-инженерных мышинных моделях, которые воспроизводят весь спектр гистологической картины, наблюдаемой при родственном заболевании человека, показана направленная на экзокринный отдел поджелудочной железы мутантная экспрессия *KRAS* [4]. Она играет ключевую роль в обеспечении быстрого и неконтролируемого роста клеток, что является отличительной чертой рака. По данным С. Таре и соавт. [5], онкогенный *KRAS*<sup>G12D</sup> опухолевых клеток управляет aberrантной передачей сигналов не только внутри опухолевых клеток, но и в соседних стромальных клетках, которые впоследствии вызывают реципрокную передачу сигналов в опухолевых клетках. В частности, исследователи показали, что клетки PDAC с мутировавшим *KRAS* продуцируют сигнальную молекулу sonic hedgehog (Shh), побуждающую стромальные звездчатые клетки поджелудочной железы (англ. pancreatic stellate cell, PSCs) высвобождать белок growth arrest-specific 6 (Gas6) и инсулиноподобный фактор роста 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1), которые опухолевые клетки не производят сами [5] (см. рисунок). Эти факторы через соответствующие рецепторные тирозинкиназы AXL и IGF1R активируют phosphoinositide-3-kinase (PI3K)/АКТ сигнальные пути в опухолевых клетках, способствуя их пролиферации и подавлению апоптоза [5]. Несмотря на то что мутантная форма белка *KRAS* является ключевым фактором развития рака поджелудочной железы, она остается сложной терапевтической мишенью [6, 7].

С. Таре и соавт. [5] описали реципрокную передачу сигналов *KRAS*<sup>G12D</sup> между опухолевыми клетками PDAC

и PSCs *in vitro*. PSCs — это резидентные фибробласты, присутствующие в норме в небольших количествах в периацинарных и междольковых областях поджелудочной железы [8]. Эти клетки содержат многочисленные перинуклеарные липидные капли, богатые витамином А, экспрессируют виментин, десмин, нестин и глиальный фибриллярный кислый белок [8]. PSCs имеют низкий индекс митотической активности и характеризуются низким уровнем продукции компонентов ВКМ [8]. Недавно описан новый специфический маркер мезенхимальных стромальных клеток мефлин (Meflin), glycosylphosphatidylinositol-anchored protein, который кодируется геном *ISLR* [9]. В поджелудочной железе Meflin экспрессируется в периваскулярных, перидуктальных и периацинарных фибробластах, включая десминпозитивные PSCs, и не обнаруживается в составе островков Лангерганса и ацинусов [9, 10]. Следует отметить, что Meflin-позитивные клетки экспрессируют рецептор витамина D [11].

PSCs считаются предшественниками активированных или опухолеассоциированных фибробластов (англ. cancer-associated fibroblasts, CAFs), которые, в отличие от неактивированных (покоящихся) резидентных в ткани фибробластов, представляют собой увеличивающуюся популяцию клеток, размножающихся *in situ* или рекрутируемых в опухоль [12]. Поскольку CAFs проявляют мезенхимальные свойства, вероятно, они происходят из мезодермы [13]. Как показано на мышинной модели PDAC, PSCs действительно являются предшественниками CAFs, но эта популяция CAFs, полученная из PSCs, численно незначительна, что предполагает дополнительное и все же неопределенное клеточное происхождение для большинства CAFs при PDAC [14]. Предшественниками CAFs, помимо PSCs, могут быть адипоциты, мезенхимальные стволовые клетки или гемопоэтические стволовые клетки костного мозга [13, 15]. Кроме того, трансдифференцировка перицитов, эндотелиальных и эпителиальных клеток также может привести к образованию популяции CAF-подобных клеток, когда последние два типа клеток претерпевают переход соответственно от эндотелия к мезенхиму [16] и эпителиально-мезенхимальный переход [17].

Секвенирование РНК одиночных клеток, мультиплексное иммуноокрашивание, разработка генетических мышинных моделей и другие подходы позволили выявить гетерогенность транскрипции генов среди CAFs в PDAC мыши и человека [18–20]. На сегодняшний день установлено, что CAFs — это неоднородная популяция стромальных фибробластов с различными фенотипами и функциями, изменяемыми во время туморогенеза. В строме одной

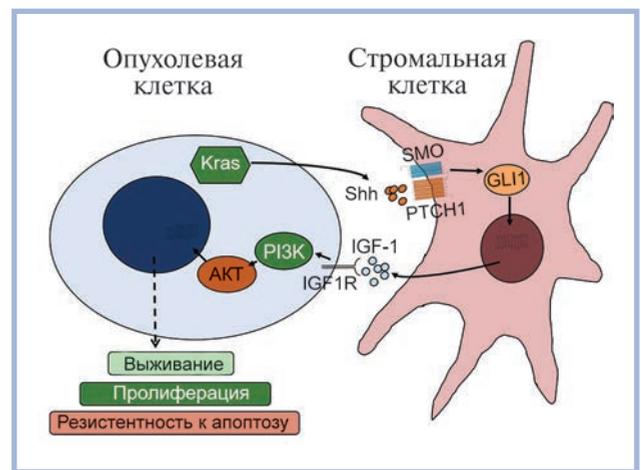
опухоли могут сосуществовать как иммуносупрессивные, так и иммуноподдерживающие субпопуляции CAFs, которые при PDAC играют дифференциальные (про- и противоопухолевая) патофизиологические роли [18, 21]. CAFs подразделяют на стимулирующие (англ. cancer-promoting, pCAF) и подавляющие (англ. cancer-restraining, rCAF) рак [11].

На мышинной модели PDAC среди CAFs были идентифицированы «миофибробластные CAFs» (англ. myofibroblastic CAFs, myCAF), «воспалительные CAFs» (англ. inflammatory CAFs, iCAF) и промежуточные подтипы CAFs, отражающие пластичность клеток [18, 21, 22] и придающие строме PDAC дихотомические свойства [14]. Как показано *in vitro*, трансформирующий фактор роста  $\beta$  способствует дифференцировке PSCs в миофибробласты/myCAF, тогда как интерлейкин-1 (IL-1) индуцирует генерацию iCAF [22].

Субпопуляция myCAF характеризуется повышенной экспрессией  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$  smooth muscle actin,  $\alpha$ SMA) [18], сниженной экспрессией *CXCL12* (кодирует хемокин C-X-C motif ligand 12, так же известный как stromal cell-derived factor 1, SDF1) и *DES* (кодирует десмин) [23]. myCAFs специализируются на клеточной сократимости [21], продуцируют десмопластическую строму и участвуют в секреции стромальных и эндотелиальных факторов роста [18]. В образцах PDAC мыши и человека myCAF были идентифицированы в непосредственной близости от неопластических клеток [18].

Субпопуляция iCAF экспрессирует низкие уровни  $\alpha$ SMA, но высокие уровни воспалительных, иммуносупрессивных медиаторов, таких как IL-6, leukemia inhibiting factor (LIF) [18, 22] и *CXCL12*, а также другие гены-маркеры — *VIM* (кодирует виментин), *FAP* (кодирует fibroblast activation protein- $\alpha$ ), *COL3A1* (кодирует коллаген III типа) и *DES* [23, 24]. В образцах PDAC мыши и человека iCAF были идентифицированы в плотной строме более удаленно от неопластических клеток [18]. Субпопуляция iCAF участвует в секреции факторов роста, продвижении проонкогенных механизмов, способствующих инвазии и метастазированию [18], химиорезистентности и другим связанным с раком системным эффектам, таким как кахексия и подавление иммунитета [22].

В связи со сказанным онкогенная реципрокная передача сигналов может происходить между не только опухолевыми клетками и PSCs, но и другими типами стромальных клеток в микроокружении опухоли. Например, как показано С. Feig и соавт. [25] на мышинной модели PDAC, секретлируемый FAP-позитивными стромальными фибробластами хемокин *CXCL12* покрывает опухолевые клетки и препятствует привлечению CD8<sup>+</sup> T-клеток в опухоль, что опосредует ускользание неопластических клеток от иммунного ответа и иммуносупрессию. Истощение FAP<sup>+</sup> стромальных клеток подавляет прогрессирование опухоли у мышей и улучшает общую выживаемость, при этом предполагается, что такие клетки способствуют развитию опухоли [25, 26]. И, наоборот, генетическая абляция  $\alpha$ SMA<sup>+</sup> CAFs или фармакологическое ингибирование сигнального пути Shh с целью подавления активности myCAF и уменьшения стромальной десмоплазии во время прогрессирования PDAC у мышей приводит к агрессивным опухолям и вызывает более быструю гибель животных по сравнению с таковыми с CAF-обогащенным PDAC [26–28]. Кроме того, делеция коллагена I типа, компонента ВКМ стромы, в  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup>-миофибробластах значительно ускоряет



### Схематическое представление реципрокной передачи сигналов между опухолевой и соседней стромальной звездчатой клеткой поджелудочной железы.

Связывание опухолевых клеток со стромальными клетками активирует в последних сигнальные пути, которые могут способствовать выживанию и росту опухолевых клеток. GLI1 — glioma-associated oncogene homolog 1; PTCH1 — patched 1; SMO — smoothened.

### Schematic representation of reciprocal signaling between a tumor cell and adjacent pancreatic stromal stellate cell.

Binding of tumor cells to stromal cells activates signaling pathways in the latter that can promote the survival and growth of tumor cells. GLI1 — glioma-associated oncogene homolog 1; PTCH1 — patched 1; SMO — smoothened.

ет смертность мышей с PDAC [29], а ингибирование перекрестного связывания коллагена с помощью lysyl oxidase like-2 (LOXL2) увеличивает рост PDAC и снижает общую выживаемость [30]. Точно также более высокая стромальная плотность опухоли, включая клеточные и бесклеточные компоненты стромы, связана с более длительной общей выживаемостью среди пациентов с PDAC [30, 31].

Однако гетерогенность CAFs при PDAC может быть более сложной, чем дихотомия на  $\alpha$ SMA-положительные или  $\alpha$ SMA-отрицательные [20]. myCAF могут быть более широким пулом CAFs, состоящим из подмножества субпопуляций [14]. В исследовании К. McAndrews и соавт. [26] показано, что  $\alpha$ SMA<sup>+</sup>-клетки так же, как и FAP<sup>+</sup>-фибробласты, секретируют IL-6. При этом только потеря IL-6 в клетках  $\alpha$ SMA<sup>+</sup>, а не в клетках FAP<sup>+</sup> улучшает ответ на химио- и иммунотерапию со значительным улучшением общей выживаемости в мышинной модели PDAC. Эти результаты и данные других исследований подчеркивают опухолесупрессивный или гомеостатический потенциал  $\alpha$ SMA<sup>+</sup> CAFs при PDAC и побуждают к более глубокому пониманию этого сложного компартмента микроокружения опухоли в отношении прогрессирования заболевания [14].

Кроме того, между терапевтическими стратегиями искоренения CAFs/удаления стромы и поддержания покоего фенотипа PSCs/ремоделирования стромы в сторону противоопухолевой стромы существуют важные различия [32, 33]. Представление о том, что клеточные и структурные компоненты «нормального» микроокружения проявляют силы и сигналы, подавляющие опухоль, способствовало развитию стратегии репрограммирования стромы и возврату активированных PSCs к их нормальному фенотипу [33, 34]. Например, нормализация ре-

цептора витамина D стромальных фибробластов ослабляет способность PSCs поддерживать рост клеточных линий PDAC человека и мышцы и улучшает терапевтический ответ PDAC [33].

Следует отметить, что специфический для пациента профиль CAFs может определять гетерогенность межопухолевой стромы.

В настоящее время на основании профилирования экспрессии генов (структурных геномных aberrаций, мутационных сигнатур и профиля экспрессии РНК) неопластических клеток и клеток опухолевой микроокружения резецированных опухолей поджелудочной железы сделаны попытки классифицировать PDAC на молекулярные подтипы [35–38]. E. Collisson и соавт. [35] описали три подтипа (классический, квазимезенхимальный и экзокриноподобный), среди которых классический имел высокую экспрессию эпителиальных генов и генов, связанных с адгезией, квазимезенхимальный подтип показал высокую экспрессию генов, связанных с мезенхимой, а экзокриноподобный — относительно высокую экспрессию генов пищеварительных ферментов, происходящих из опухолевых клеток. На продвинутой стадии PDAC R. Moffitt и соавт. [36] определили 2 подтипа (классический и базальноподобный), P. Bailey и соавт. [37] выделили 4 подтипа (плоскоклеточный, прогениторный, иммуногенный, аномально дифференцированный эндокринный и экзокринный (ADEX)). F. Puleo и соавт. [38] подтвердили базальноподобный и классический опухолеспецифические подтипы PDAC, ранее описанные R. Moffitt и соавт., и разделили опухоли на 5 подтипов (чисто базальноподобные, активируемые стромой, десмопластические, чисто классические и классические иммунные). Авторы также показали, что экзокриноподобный подтип опухоли, называемый ADEX, возник в результате загрязнения ацинарными клетками поджелудочной железы [38]. По мнению G. O' Kane и соавт. [39], квазимезенхимальные [35], базальноподобные [36] и плоскоклеточные [37] когорты хорошо совпадают по классификации и все связаны с плохим прогнозом в этих исследованиях. Базальноподобный подтип является

химиорезистентным и может быть отличен от классического PDAC по экспрессии транскрипционного фактора GATA6, поскольку в базальноподобном подтипе наблюдается низкий уровень GATA6 или его отсутствие [39]. Поскольку иммунное микроокружение играет важную роль в инвазии опухолевых клеток и прогрессировании PDAC, X. Wang и соавт. [40] на основании гетерогенности стромального и иммунного микроокружения PDAC разделили когорту PDAC на 4 иммунных подтипа. Авторы выделили «обогащение иммунными и стромальными клетками» (immune-enrich-stroma), «неиммунное обогащение, но обогащение стромальными клетками» (non-immune-stroma), «общее иммунное, но нематриксное обогащение» (immune-enrich-non-stroma) и «неиммунное и нестромально-клеточное обогащение» (non-immune-non-stroma) [40]. Выявление молекулярных различий между опухолями может быть полезно при стратификации пациентов для адаптации терапии или определения лучшего метода лечения за счет нацеливания лекарств на подтип опухоли, при котором они избирательно эффективны [1]. Однако клеточная гетерогенность опухоли и различия в методологии кластеризации оставляют неопределенность в отношении наиболее подходящей классификации и, кроме того, клиническое применение этих подтипов на поздних стадиях заболевания неясно [39].

Будущие исследования для определения механизмов, формирующих гетерогенность CAFs при PDAC, и уникальных функций отдельных подмножеств CAFs помогут понять, как микроокружение опухоли влияет на прогрессирование PDAC, и, возможно, укажут на важные стромальные мишени для терапевтического вмешательства.

*Работа выполнена в рамках внутреннего гранта МГМСУ им. Евдокимова №КНП-20/21 и в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2022 г. № 0088-2021-0017.*

*The work was conducted under the Inner Grant of Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry №КНП-20/21 and the IDB RAS Government basic research program in 2022 №0088-2021-0017.*

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Raphael BJ, Hruban RH, Aguirre AJ, Moffitt RA, Yeh JJ, Stewart C, Robertson AG, Cherniack AD, Gupta M, Getz G, et al. Integrated genomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*. 2017;32(2):185–203.e13. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.07.007>
- Kotoula V, Charalambous E, Biesmans B, Malousi A, Vrettou E, Fountzilias G, Karkavelas G. Targeted KRAS mutation assessment on patient tumor histologic material in real time diagnostics. *PLoS One*. 2009;4(11):e7746. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007746>
- Avery JT, Zhang R, Boohaker RJ. G111: a therapeutic target for cancer. *Front Oncol*. 2021;11:673154. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.673154>
- Maitra A, Hruban RH. Pancreatic cancer. *Annu Rev Pathol*. 2008;3:157–88. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.154305>
- Tape CJ, Ling S, Dimitriadi M, McMahon KM, Worboys JD, Leong HS, Norrie IC, Miller CJ, Poulgiannis G, Lauffenburger DA, Jorgensen C. Oncogenic KRAS regulates tumor cell signaling via stromal reciprocation. *Cell*. 2016;165(4):910–920. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.03.029>
- Kamerkar S, Lebleu VS, Sugimoto H, Yang S, Ruivo CF, Melo SA, Lee JJ, Kalluri R. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*. 2017;546(7659):498–503. <https://doi.org/10.1038/nature22341>
- Buscail L, Bournet B, Cordelier P. Role of oncogenic KRAS in the diagnosis, prognosis and treatment of pancreatic cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(3):153–68. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0245-4>
- Bachem MG, Zhou S, Buck K, Schneiderhan W, Siech M. Pancreatic stellate cells — role in pancreas cancer. *Langenbecks Arch Surg*. 2008;393(6):891–900. <https://doi.org/10.1007/s00423-008-0279-5>
- Maeda K, Enomoto A, Hara A, Asai N, Kobayashi T, Horinouchi A, Maruyama S, Ishikawa Y, Nishiyama T, Kiyoi H, et al. Identification of Meflin as a potential marker for mesenchymal stromal cells. *Sci Rep*. 2016;6:22288. <https://doi.org/10.1038/srep22288>
- Takahashi M, Kobayashi H, Mizutani Y, Hara A, Iida T, Miyai Y, Asai N, Enomoto A. Roles of the mesenchymal stromal/stem cell marker Meflin/Islr in cancer fibrosis. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:749924. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.749924>

11. Mizutani Y, Kobayashi H, Iida T, Asai N, Masamune A, Hara A, Esaki N, Ushida K, Mii S, Shiraki Y, et al. Meflin-positive cancer-associated fibroblasts inhibit pancreatic carcinogenesis. *Cancer Res.* 2019;79(20):5367-5381. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-0454>
12. LeBleu VS, Kalluri R. A peek into cancer-associated fibroblasts: origins, functions and translational impact. *Dis Model Mech.* 2018;11(4):dmm029447. <https://doi.org/10.1242/dmm.029447>
13. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(9):582-598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>
14. Helms EJ, Berry MW, Chaw RC, Dufort CC, Sun D, Onate MK, Oon C, Bhattacharyya S, Sanford-Crane H, Horton W, et al. Mesenchymal lineage heterogeneity underlies nonredundant functions of pancreatic cancer-associated fibroblasts. *Cancer Discov.* 2022;12(2):484-501. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0601>
15. Shiga K, Hara M, Nagasaki T, Sato T, Takahashi H, Takeyama H. Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth. *Cancers (Basel).* 2015;7(4):2443-2458. <https://doi.org/10.3390/cancers7040902>
16. Potenta S, Zeisberg E, Kalluri R. The role of endothelial-to-mesenchymal transition in cancer progression. *Br J Cancer.* 2008;99(9):1375-1379. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604662>
17. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1420-1428. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
18. Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, Elyada E, Almeida AS, Ponz-Sarvise M, Corbo V, Oni TE, Hearn SA, Lee EJ, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med.* 2017;214(3):579-596. <https://doi.org/10.1084/jem.20162024>
19. Elyada E, Bolisetty M, Laise P, Flynn WF, Courtois ET, Burkhart RA, Teinor JA, Belleau P, Biffi G, Lucito MS, et al. Cross-species single-cell analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma reveals antigen-presenting cancer-associated fibroblasts. *Cancer Discov.* 2019;9(8):1102-1123. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-0094>
20. Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Ragulan C, Cros J, Patil Y, Martinet M, Erkan M, Kleeff J, Wilson J, Apte M, et al. Inter- and intra-tumoural heterogeneity in cancer-associated fibroblasts of human pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Pathol.* 2019;248(1):51-65. <https://doi.org/10.1002/path.5224>
21. De Jaeghere EA, Denys HG, De Wever O. Fibroblasts fuel immune escape in the tumor microenvironment. *Trends Cancer.* 2019;5(11):704-723. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2019.09.009>
22. Biffi G, Oni TE, Spielman B, Hao Y, Elyada E, Park Y, Preall J, Tuveson DA. III-1-induced JAK/STAT signaling is antagonized by TGF $\beta$  to shape CAF heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2019;9(2):282-301. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0710>
23. Bernard V, Semaan A, Huang J, San Lucas FA, Mulu FC, Stephens BM, Guerrero PA, Huang Y, Zhao J, Kamyabi N, et al. Single-cell transcriptomics of pancreatic cancer precursors demonstrates epithelial and microenvironmental heterogeneity as an early event in neoplastic progression. *Clin Cancer Res.* 2019;25(7):2194-2205. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1955>
24. Avery D, Govindaraju P, Jacob M, Todd L, Monslow J, Puré E. Extracellular matrix directs phenotypic heterogeneity of activated fibroblasts. *Matrix Biol.* 2018;67:90-106. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.12.003>
25. Feig C, Jones JO, Kraman M, Wells RJB, Deonaraine A, Chan DS, Connell CM, Roberts EW, Zhao Q, Caballero OL, et al. Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110(50):20212-20217. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320318110>
26. McAndrews KM, Chen Y, Darpolor JK, Zheng X, Yang S, Carstens JL, Li B, Wang H, Miyake T, Correa de Sampaio P, et al. Identification of functional heterogeneity of carcinoma-associated fibroblasts with distinct IL6-mediated therapy resistance in pancreatic cancer. *Cancer Discov.* 2022;12(6):1580-1597. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-20-1484>
27. Rhim AD, Oberstein PE, Thomas DH, Mirek ET, Palermo CF, Sastra SA, Dekleva EN, Saunders T, Becerra CP, Tattersall IW, et al. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2014;25(6):735-747. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.04.021>
28. Özdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu CC, Simpson TR, Laklai H, Sugimoto H, Kahlert C, Novitskiy SV, et al. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell.* 2014;25(6):719-734. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.04.005>
29. Chen Y, Kim J, Yang S, Wang H, Wu CJ, Sugimoto H, LeBleu VS, Kalluri R. Type I collagen deletion in  $\alpha$ SMA<sup>+</sup> myofibroblasts augments immune suppression and accelerates progression of pancreatic cancer. *Cancer Cell.* 2021;39(4):548-565.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.02.007>
30. Jiang H, Torphy RJ, Steiger K, Hongo H, Ritchie AJ, Kriegsmann M, Horst D, Umetsu SE, Joseph NM, McGregor K, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma progression is restrained by stromal matrix. *J Clin Invest.* 2020;130(9):4704-4709. <https://doi.org/10.1172/JCI136760>
31. Torphy RJ, Wang Z, True-Yasaki A, Volmar KE, Rashid N, Yeh B, Johansen JS, Hollingsworth MA, Yeh JJ, Collisson EA. Stromal content is correlated with tissue site, contrast retention, and survival in pancreatic adenocarcinoma. *JCO Precis Oncol.* 2018;2018:PO.17.00121. <https://doi.org/10.1200/po.17.00121>
32. Brock A, Krause S, Ingber DE. Control of cancer formation by intrinsic genetic noise and microenvironmental cues. *Nat Rev Cancer.* 2015;15(8):499-509. <https://doi.org/10.1038/nrc3959>
33. Sherman MH, Yu RT, Engle DD, Ding N, Atkins AR, Tiriach H, Collisson EA, Connor F, Van Dyke T, Kozlov S, et al. Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreaticitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell.* 2014;159(1):80-93. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.08.007>
34. Jaster R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol Cancer.* 2004;3:26. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-3-26>
35. Collisson EA, Sadanandam A, Olson P, Gibb WJ, Truitt M, Gu S, Cooc J, Weinkle J, Kim GE, Jakkula L, et al. Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy. *Nat Med.* 2011;17(4):500-503. <https://doi.org/10.1038/nm.2344>
36. Moffitt RA, Marayati R, Flate EL, Volmar KE, Loeza SGH, Hoadley KA, Rashid NU, Williams LA, Eaton SC, Chung AH, et al. Virtual microdissection identifies distinct tumor- and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Genet.* 2015;47(10):1168-1178. <https://doi.org/10.1038/ng.3398>
37. Bailey P, Chang DK, Nones K, Johns AL, Patch AM, Gingras MC, Miller DK, Christ AN, Bruxner TJC, Quinn MC, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature.* 2016;531(7592):47-52. <https://doi.org/10.1038/nature16965>
38. Puleo F, Nicolle R, Blum Y, Cros J, Marisa L, Demetter P, Quertinmont E, Svrcek M, Elarouci N, Iovanna J, et al. Stratification of

- pancreatic ductal adenocarcinomas based on tumor and microenvironment features. *Gastroenterology*. 2018;155(6):1999-2013.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.033>
39. O’Kane GM, Grunwald BT, Jang GH, Masoomian M, Picardo S, Grant RC, Denroche RE, Zhang A, Wang Y, Lam B, et al. GATA6 expression distinguishes classical and basal-like subtypes in advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(18):4901-4910. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3724>
40. Wang X, Li L, Yang Y, Fan L, Ma Y, Mao F. Reveal the heterogeneity in the tumor microenvironment of pancreatic cancer and analyze the differences in prognosis and immunotherapy responses of distinct immune subtypes. *Front Oncol*. 2022;12:832715. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.832715>

Поступила 27.04.2022

Received 27.04.2022

Принята в печать 22.06.2022

Accepted 22.06.2022

## Памяти профессора Георгия Борисовича Ковальского

### In memory of Professor Georgy Borisovich Kovalsky

22 июля 2022 г. после тяжелой и продолжительной болезни на 75-м году ушел из жизни Георгий Борисович Ковальский, доктор медицинских наук, профессор, член Международной академии патологии и Международной академии управления.

Он родился 31 июля 1946 г. в Ташкенте. Его отец, Борис Павлович, был военным юристом, а мать, Майса Ивановна, — акушеркой. Там же, в Ташкенте, он закончил среднюю школу, а в 1964 г. поступил на лечебный факультет 1-го Ленинградского медицинского института им. И.П. Павлова и в 1970 г. успешно его закончил. Уже на III курсе института определилась его профессиональная ориентация, начавшаяся с увлеченной работы в СНО на кафедре патологической анатомии под руководством Т.Б. Журавлевой, учителями которой были виднейшие представители ленинградской школы патологоанатомов профессора Г.В. Шор, В.Г. Гаршин и М.А. Захарьевская.

Работа на кафедре в студенческие годы — это еще и активное включение в экспериментальное изучение дисгормональной гиперплазии в полном осознании того, что проведение экспериментально-морфологического исследования позволяет решить ряд задач, стоящих перед прозектором и клиницистом и касающихся становления гиперплазии, ее ведущих звеньев, связи отдельных звеньев между собой, что невозможно сделать на секционном материале.

Обогатившись знаниями благодаря обширному конкретному материалу, полученному при текущей секционной работе в прозектуре, Г.Б. Ковальский стал задумываться над общими закономерностями патологии и наметил перспективы своего собственного участия в их изучении, сосредоточившись на методике и методологии гистохимического анализа активности ферментов, а также количественного анализа морфологических данных. По окончании института он продолжал работать на кафедре патологической анатомии в должности ассистента, возглавил лабораторию гистохимии и стал одним из инициаторов проведения срочных круглосуточных аутопсий; в 1974 г. защитил кандидатскую диссертацию «Функциональная морфология яичников при экспериментальном гиперэстрогенизме».

В 1984 г. Г.Б. Ковальский уехал в Хабаровск, чтобы занять должность заведующего кафедрой патологической анатомии Хабаровского медицинского института. Опыт предшествующей преподавательской работы позволил ему проводить обучение студентов на самом высоком уровне с твердой уверенностью в том, что речь идет о науке клинической, при этом переход студентов на III курс знаменует новый этап обучения, когда они впервые встречаются с больными, учатся предупреждать, распознавать и лечить болезни.



Лекции Г.Б. Ковальского отличались обстоятельностью и полнотой. Они давали ясное представление об идейных основах отечественной патологической анатомии и ленинградской школы патологоанатомов, ярким представителем которой он сам являлся, воспитывали чувство гордости за отечественную медицину. В его лекциях в полной мере отразилась клинико-анатомическая направленность нашей патологической анатомии, не оставляющая сомнений в ее тесной связи с практическим здравоохранением.

Деятельность Г.Б. Ковальского в те годы не ограничивалась заботами вуза и подготовкой высококвалифицированных кадров. Была еще и работа в Центральной учебно-методической комиссии по патологической анатомии при Минздраве СССР, в Хабаровском обществе патологоанатомов, председателем которого он являлся, и в Дальневосточном диагностическом и организационно-методическом центре патолого-анатомической службы, которым он руководил. Все это Георгий Борисович делал с полной отдачей духовных и физических сил.

В 1988 г. в НИИ морфологии человека АМН СССР (Москва) Г.Б. Ковальский защитил докторскую диссертацию «Морфофункциональные особенности яичников в раннем репродуктивном периоде при эндокринном бесплодии и климаксе». В 1989 г. ему было присвоено ученое звание профессора.

Г.Б. Ковальский — автор более 250 научных работ, включая 6 коллективных монографий, среди которых «Введение в количественную гистохимию ферментов» (1976), «Функциональная морфология нейроэндокринной системы» (1978), «Старение, адаптация, обратимость» (1992), «Структурные основы эндокринной и генеративной функции яичников в норме и патологии» (1996),

«Опухоли толстой кишки» (1995) и др. Под его руководством защищены две докторские и пять кандидатских диссертаций.

С 1994 г. на протяжении 24 лет Георгий Борисович возглавлял самое крупное в России патолого-анатомическое бюро (ГПАБ). Все эти годы он активно занимался вопросами совершенствования патолого-анатомической службы, разработкой стандартов и систем, обеспечивающих высокое качество прижизненной и посмертной диагностики. При его непосредственном участии были организованы консультативно-методический совет, в состав которого вошли специалисты вузов и НИИ, а также общегородская консультативно-диагностическая сеть, объединившая высококвалифицированных патологоанатомов различной специализации.

В 1996 г. по инициативе Г.Б. Ковальского в ГПАБ было принято решение издавать научно-практический журнал «Библиотека патологоанатома», бессменным главным редактором которого он оставался четверть века. В монографическом порядке в журнале освещается широкий спектр тем по онкологической, инфекционной, эндокринологической и другим разделам патологии. Вышло без малого 200 номеров этого журнала, явившегося хорошим подспорьем в практической работе патологоанатомов и клиницистов и ставшего со временем печатным органом Российского общества патологоанатомов.

Созданный на базе ГПАБ организационно-методический отдел осуществлял сбор отчетов всех патолого-анатомических отделений города и подробный анализ структуры смертности и качества прижизненной диагностики в стационарах и амбулаторно-поликлинических учреждениях города, проводил консультации по вопросам использования МКБ-10.

В 2006 г. Георгий Борисович Ковальский стал академиком Международной академии управления и членом Международной академии патологии.

Многие годы Г.Б. Ковальский был членом правления Общества патологоанатомов Санкт-Петербурга и Ленинградской области, а в период с 2013 по 2017 г. возглавлял региональное отделение Российского общества патологоанатомов (РОП), он также входил в состав президиума

РОП и Технического комитета Росздравнадзора по сертификации.

За заслуги в области здравоохранения Георгий Борисович Ковальский был отмечен почетной грамотой Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга (2011 г.), почетной грамотой Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (2006 г.).

Георгий Борисович Ковальский — замечательный патологоанатом, успешный организатор городской патолого-анатомической службы, яркий представитель петербургской школы патологоанатомов с ее неизменным интересом к клинике, верный идеалам и традициям этой школы в стремлении представить патологические процессы в динамике, вскрыть механизмы происхождения морфологических изменений и в полной мере оценить их функциональное значение. Он был убежденным противником морфологизма, превращающего морфологическое исследование в самоцель и затрудняющего плодотворную связь патологоанатома с клиницистом.

Г.Б. Ковальский был человеком *comme il faut* во всех отношениях, всегда изысканно и строго одетый, статный, гладко выбритый, с высоко поднятой головой, на первый взгляд он мог показаться даже чуть надменным. На самом деле он был чистосердечным, доброжелательным и высоко порядочным человеком, радость совместной работы и общения с которым запоминалась на долгие годы.

Неоценим вклад Георгия Борисовича Ковальского в профессиональное сообщество Санкт-Петербурга. Светлая память о нем навсегда останется в сердцах его коллег, друзей и учеников.

О милых спутниках, которые наш свет  
Своим сопутствием для нас животворили,  
Не говори с тоской: их нет;  
Но с благодарностию: были.

*Коллектив Городского патолого-анатомического бюро Санкт-Петербурга, Санкт-Петербургского регионального отделения Российского общества патологоанатомов глубоко скорбят по поводу смерти Георгия Борисовича Ковальского и выражают искренние соболезнования его родным и близким.*



# Aperio GT450 DX

На **30** патентов  
**УМНЕЕ**



- ❗ Приоритизация случаев для сканирования
- ✔ Автоматическое сканирование в режиме «поставил корзину и ушел»
- 🗑️ Безостановочная загрузка корзин
- 📦 Вместимость до 450 стекол
- 🔍 Специальный объектив 40x от Leica



**Время сканирования:**  
32 сек на 40x



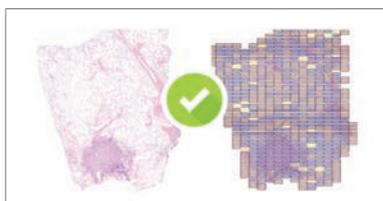
**81 препарат**  
в час на 40x



**120 000 препаратов**  
в год при работе  
Aperio GT450 DX  
по 5 часов в день



Открытый дизайн Aperio GT450 для безостановочной загрузки кассет со стеклами. Работа без управляющей рабочей станции. Максимальная продуктивность



Патоморфолог точно получит качественные изображения препаратов. Автоматический контроль качества получаемых изображений.



Полная статистика работы сканера с информацией о ваших препаратах

реклама



000 «БиоЛайн»  
197022, Россия, Санкт-Петербург  
ул. Проф. Попова, д. 23, лит. Е  
факс: +7 (812) 320 49 40  
www.bioline.ru

127055, Москва, Бутырский вал,  
68/70, стр. 1, 3 этаж, офис 34  
тел.: +7 (800) 555 49 40  
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63  
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47  
Екатеринбург, тел.: +7 (922) 034 22 11

Региональные представители:  
Екатеринбург, тел.: +7 (922) 034 22 11  
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (928) 192 90 40  
Самара, тел.: +7 (927) 688 28 49  
Казань, тел.: +7 (937) 006 64 48  
Хабаровск, тел.: +7 (924) 203 10 58  
Уфа, тел.: +7 (937) 855 78 52

