

# АЛЬМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

46 (4) • 2018

- Экспрессия p-AKT1 в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование
- Клинико-морфологические особенности аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов
- Редкие клинические наблюдения «комбинированных» карцином кожи у реципиентов аллотрансплантата трупной почки
- Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций
- Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных
- Опухоль из клеток вольфова протока: клиническое наблюдение и обзор литературы
- Иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора 2-го типа в опухолях больных раком желудка: клинико-морфологические корреляции
- Меланома хориоидеи, симулирующая опухоль зрительного нерва

## ТЕМЫ НОМЕРА:

КЛИНИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ  
ОНКОЛОГИЯ

# АЛЬМАНАХ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал  
Издается с 1998 г.  
Периодичность – 8 выпусков в год  
Учредитель – ГБУЗ МО «Московский  
областной научно-исследовательский  
клинический институт  
им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ)

Том 46 • № 4 • 2018

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

**Палеев Филипп Николаевич**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., заместитель генерального директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России по научно-аналитической работе (Москва, Россия)

## Заместитель главного редактора

**Молочков Антон Владимирович**, д-р мед. наук, проф., заместитель директора ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского по науке и международным связям (Москва, Россия)

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Баркан Ариель**, д-р мед. наук, проф., медицинский факультет, отдел метаболизма, эндокринологии и диабета отделения нейрохирургии Мичиганского университета, содиректор Центра нейроэндокринологии и заболеваний гипофиза Мичиганского университета (Энн-Арбор, США)

**Белоусова Елена Александровна**, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением гастроэнтерологии, зав. кафедрой гастроэнтерологии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

**Богачев-Прокофьев Александр Владимирович**, д-р мед. наук, руководитель Центра новых хирургических технологий ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск, Россия)

**Брагин Анатолий Григорьевич**, д-р биол. наук, научный сотрудник Центра по эпилепсии, отделение неврологии Калифорнийского университета (Лос-Анджелес, США)

**Васюк Юрий Александрович**, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой клинической функциональной диагностики ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (Москва, Россия)

**Голухова Елена Зеликовна**, академик РАН, д-р мед. наук, проф., руководитель отделения неинвазивной аритмологии ФГБУ «ННПЦССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России (Москва, Россия)

**Давыдов Михаил Михайлович**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, зав. хирургическим торакальным отделением НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Добрынина Лариса Анатольевна**, д-р мед. наук, руководитель 3-го неврологического отделения ФГБНУ НЦН (Москва, Россия)

**Драпкина Оксана Михайловна**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., директор ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России (Москва, Россия)

**Киров Михаил Юрьевич**, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России (Архангельск, Россия)

**Мельниченко Галина Афанасьевна**, академик РАН, д-р мед. наук, проф., директор Института клинической эндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (Москва, Россия)

**Нероев Владимир Владимирович**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., директор ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (Москва, Россия)

**Овезов Алексей Мурадович**, д-р мед. наук, зав. отделением анестезиологии, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

**Пономаренко Геннадий Николаевич**, д-р мед. наук, профессор, генеральный директор ФГБУ ФНЦРИ им. Г.А. Альбрехта Минтруда России (Санкт-Петербург, Россия)

**Романко Юрий Сергеевич**, д-р мед. наук, руководитель научно-организационного отдела Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (Обнинск, Калужская область, Россия)

## Научный редактор выпуска

**Казанцева Ирина Александровна**, д-р мед. наук, профессор, руководитель патологоанатомического отделения ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

## Ответственный редактор

**Парпара Олеся Анатольевна** (Москва, Россия)

**Шахова Наталия Михайловна**, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биофотоники, отдел радиофизических методов в медицине, отделение нелинейной динамики и оптики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр ИФФ РАН» (Нижний Новгород, Россия)

**Шишацкая Екатерина Игоревна**, профессор РАН, д-р биол. наук, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хемоавтотрофного биосинтеза Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск, Россия)

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Председатель: **Палеев Николай Романович**, академик РАН, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой терапии факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва, Россия)

**Бухфельдер Михаэль**, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения нейрохирургии Университетской клиники г. Эрланген (Эрланген, Германия)

**Вольфенбюттель Брюс**, д-р мед. наук, профессор, руководитель Департамента эндокринологии Университетского медицинского центра Гронингена (Гронинген, Нидерланды)

**Густина Андреа**, д-р мед. наук, президент Европейского общества эндокринологов, профессор кафедры эндокринологии, Университет Вита Салюте Сан-Раффаэле (Милан, Италия)

**Де Херт Стефан**, д-р мед. наук, председатель научного комплекса Европейского общества анестезиологии, профессор кафедры анестезиологии и периперативной медицины Гентского университета (Гент, Бельгия)

**Кушлинский Николай Евгеньевич**, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Литвинов Рустем Игоревич**, д-р мед. наук, профессор, старший исследователь отдела клеточной биологии и биологии развития медицинского факультета Пенсильванского университета (Филадельфия, США)

**Лобзин Юрий Владимирович**, академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (Санкт-Петербург, Россия)

**Майр Йоханнес**, д-р мед. наук, профессор, консультант по детской хирургии отделения детской хирургии Педиатрической клиники Университета Базеля (Базель, Швейцария)

**Мурешану Дафин Ф.**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой и клиникой неврологии медицинского факультета Медико-фармацевтического университета г. Клуж-Напока (Клуж-Напока, Румыния)

**Наймарк Олег Борисович**, д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. лабораторией физических основ прочности ИМСС УрО РАН – филиал ПОИЦ УрО РАН (Пермь, Россия)

**Райниш Уолтер**, д-р мед. наук, профессор кафедры гастроэнтерологии медицинского факультета Университета МакМастер (Гамильтон, Канада)

**Ян Чи**, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения челюстно-лицевой хирургии Шанхайского 9-го народного госпиталя, Шанхайский университет Цзяо Тун (Шанхай, Китай)

## Содержание

### Оригинальные статьи

Гуревич Л.Е., Казанцева И.А.

**Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных** ..... 298

Делекторская В.В., Соловьева О.Н., Чемерис Г.Ю., Патютко Ю.И.

**Экспрессия фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-AKT1) в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование** ..... 314

Герштейн Е.С., Иванников А.А., Чанг В.Л., Огнерубов Н.А., Давыдов М.М., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е.

**Иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора 2-го типа в опухолях больных раком желудка: клиничко-морфологические корреляции** ..... 323

Лищук С.В., Дубова Е.А., Павлов К.А., Удалов Ю.Д.

**Клиничко-морфологические особенности аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов** ... 330

Неров В.В., Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю., Бурденный А.М., Логинов В.И., Хлгатын М.Р.

**Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций** ..... 338

Седова Т.Г., Хлебникова А.Н.

**Клинические и морфологические особенности лейкоплакии в Пермском регионе** ..... 347

Лискова Ю.В., Стадников А.А., Саликова С.П.

**Гендерные особенности морфологических фенотипов миокарда ушка правого предсердия у больных хронической сердечной недостаточностью, перенесших открытую операцию на сердце** ..... 355

### Клинические наблюдения

Казанцева И.А., Гуревич Л.Е., Бобров М.А.

**Редкие клинические наблюдения «комбинированных» карцином кожи у реципиентов аллотрансплантата трупной почки** ..... 367

Дубова Е.А., Павлов К.А., Лищук С.В., Тертычный А.С., Бахвалова А.А., Брюнин Д.В.

**Опухоль из клеток вольфова протока: клиническое наблюдение и обзор литературы** ..... 374

Бондаренко Е.В., Гуревич Л.Е., Котова И.В.

**Клиническое наблюдение метастатического поражения щитовидной железы у пациентки с раком молочной железы** ..... 379

Амирян А.Г., Пантелеева О.Г., Майбогин А.М., Цыганков А.Ю., Саакян С.В.

**Меланома хориоидеи, симулирующая опухоль зрительного нерва: клинический случай** ..... 384

Гришина Е.Е.

**Саркома Капоши с поражением век (6 клинических случаев)** ..... 390

Подписной индекс 81988  
Объединенный каталог «Пресса России»

Журнал индексируется в системе  
Российского индекса научного цитирования  
(РИНЦ): [www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)

© 2018 ГБУЗ МО МОНИКИ  
им. М.Ф. Владимирского  
[www.monikiweb.ru](http://www.monikiweb.ru)

ISSN 2072-0505 (print)  
ISSN 2587-9294 (online)

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе  
по надзору в сфере связи, информационных  
технологий и массовых коммуникаций.  
Свидетельство ПИ № ФС77-34730 от 23.12.2008.

«Альманах клинической медицины» входит  
в перечень рецензируемых научных изданий,  
в которых должны быть опубликованы основные  
научные результаты диссертаций на соискание  
ученой степени кандидата наук, на соискание  
ученой степени доктора наук (Перечень ВАК).  
Шифр группы научных специальностей:  
14.01.00 – клиническая медицина

Редакция не несет ответственности за содержа-  
ние рекламных публикаций.

Полная или частичная перепечатка или размно-  
жение каким-либо способом статей и иллюстра-  
ций допускается только с письменного разреше-  
ния редакции.

**Адрес редакции:**  
129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2, корп. 8  
Тел.: +7 (495) 688 32 41  
E-mail: [o\\_papara@monikiweb.ru](mailto:o_papara@monikiweb.ru)  
[www.almclinmed.ru](http://www.almclinmed.ru), [www.monikiweb.ru/node/15](http://www.monikiweb.ru/node/15)

# ALMANAC OF CLINICAL MEDICINE

The scientific and practical journal

Published since 1998

Founded and published by Moscow Regional  
Research and Clinical Institute (MONIKI),  
Moscow, Russian Federation

Publication frequency: 8 issues per year

Volume 46 • Number 4 • 2018

---

## EDITOR-IN-CHIEF

**Filipp N. Paleev**, Corr. member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Prof., Deputy General Director on Scientific and Analytical Work, Federal State Budget Organization National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Moscow, Russia)

## Deputy Chief Editor

**Anton V. Molochkov**, MD, PhD, Prof., Deputy Director on Science and International Communications, MONIKI (Moscow, Russia)

## EDITORIAL BOARD

**Ariel L. Barkan**, MD, Professor of Medicine, Professor of Neurosurgery, Department of Medicine, Division of Metabolism, Endocrinology and Diabetes, Department of Neurosurgery, Co-director of Pituitary and Neurosurgery Center, University of Michigan (Ann Arbor, USA)

**Elena A. Belousova**, MD, PhD, Professor, Head of Department of Gastroenterology, Head of Chair of Gastroenterology, Postgraduate Training Faculty, MONIKI (Moscow, Russia)

**Alexandr V. Bogachev-Prokophiev**, MD, PhD, Head of Center of the New Surgical Technologies of NMRC named after E.N. Meshalkin (Novosibirsk, Russia)

**Anatol J. Bragin**, PhD, Epilepsy Center, Department of Neurology, University of California (Los Angeles, USA)

**Yury A. Vasyuk**, MD, PhD, Professor, Head of Chair of Clinical Functional Diagnostics, MSUMD (Moscow, Russia)

**Elena Z. Golukhova**, Member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Head of Department of Non-Invasive Arrhythmology, BSCCS (Moscow, Russia)

**Mikhail M. Davydov**, Corr. member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Head of Department of Thoracic Surgery, Research Institute of Clinical Oncology, N.N. Blokhin RCRC (Moscow, Russia)

**Larisa A. Dobrynina**, MD, PhD, Head of the 3<sup>rd</sup> Department of Neurology, Research Center of Neurology (Moscow, Russia)

**Oksana M. Drapkina**, Corr. member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Director of NMRCPM (Moscow, Russia)

**Mikhail Yu. Kirov**, MD, PhD, Professor, Head of Chair of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russia)

**Galina A. Mel'nichenko**, Member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Director of Institut of Clinical Endocrinology, Endocrinology Research Center (Moscow, Russia)

**Vladimir V. Neroev**, Corr. member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Director of Helmholtz Research Institute of Eye Diseases (Moscow, Russia)

**Alexey M. Ovezov**, MD, PhD, Head of Department of Anaesthesiology, Head of Chair of Anaesthesiology and Reanimatology, Postgraduate Training Faculty, MONIKI (Moscow, Russia)

**Gennadiy N. Ponomarenko**, MD, PhD, Professor, General Director of Federal Research Center of Prosthetics and Rehabilitation of the Disabled named after G.A. Albrecht, Ministry of Labour and Social Protection (Saint Petersburg, Russia)

**Yury S. Romanko**, MD, PhD, Head of Scientific and Organizational Department of A. Tsyb Medical Radiological Research Centre (Obninsk, Kaluga Region, Russia)

**Natalia M. Shakhova**, MD, PhD, Leading Research Fellow, Biophotonics Laboratory, IAP RAS (Nizhny Novgorod, Russia)

## Science Editor

**Irina A. Kazantseva**, MD, PhD, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy, MONIKI (Moscow, Russia)

## Managing Editor

**Olesya A. Parpara** (Moscow, Russia)

**Ekaterina I. Shishatskaya**, Professor of Russ. Acad. Sci., ScD in Biology, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Chemoautotrophic Biosynthesis, Biophysics Institute of the Siberian Branch of the RAS (Krasnoyarsk, Russia)

## EDITORIAL COUNCIL

Chair: **Nikolay R. Paleev**, Member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Prof., Head of Chair of Therapy, Postgraduate Training Faculty, MONIKI (Moscow, Russia)

**Michael Buchfelder**, MD, PhD, Professor, Head of Department of Neurosurgery, University Hospital Erlangen (Erlangen, Germany)

**Bruce H.R. Wolffenbuttel**, MD, PhD, Professor of Endocrinology and Metabolism, Head of Department of Endocrinology, University Medical Center Groningen (Groningen, Netherlands)

**Andrea Giustina**, MD, President of European Society of Endocrinology, Professor of Endocrinology, Vita-Salute San Raffaele University (Milan, Italy)

**Stefan De Hert**, MD, PHD, Chair of ESA Scientific Committee, Professor of Department of Anaesthesiology and Perioperative Medicine, Ghent University (Ghent, Belgium)

**Nikolay E. Kushlinskii**, Corr. member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Head of Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Blokhin RCRC (Moscow, Russia)

**Rustem I. Litvinov**, MD, PhD, Professor, Senior Research Investigator, Department of Cell and Developmental Biology, School of Medicine, University of Pennsylvania (Philadelphia, USA)

**Yurii V. Lobzin**, Member of Russ. Acad. Sci., MD, PhD, Professor, Director of Scientific and Clinical Center of Children's Infections (Saint Petersburg, Russia)

**Johannes Mayr**, MD, Professor of Pediatric Surgery, Department of Pediatric Surgery, University Children's Hospital Basel (Basel, Switzerland)

**Dafin F. Muresanu**, MD, PhD, MBA, FANA, Professor, Chairman of the Neurosciences Department, Faculty of Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca (Cluj-Napoca, Romania)

**Oleg B. Naimark**, ScD in Phys.-Math., Professor, Head of Laboratory of Physical Foundation of Strength, Institute of Continuous Media Mechanics of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Perm, Russia)

**Walter W. Reinisch**, MD, Professor, Division of Gastroenterology, Department of Medicine, MacMaster University (Hamilton, Canada)

**Chi Yang**, DDS, PhD, Professor, Head of Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University (Shanghai, PRC)

TOPICS OF THE ISSUE:  
CLINICAL MORPHOLOGY  
ONCOLOGY

Almanac of Clinical Medicine.  
2018; 46 (4)

## Content

### Articles

*L.E. Gurevich, I.A. Kazantseva*

**Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database** ..... 298

*V.V. Delektorskaya, O.N. Solov'eva, G.Yu. Chemeris, Yu.I. Patyutko*

**Expression of the phosphorylated variant of the AKT1-kinase (p-AKT1) in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: immunohistochemical evaluation** ..... 314

*E.S. Gershtein, A.A. Ivannikov, V.L. Chang, N.A. Ognerubov, M.M. Davydov, I.S. Stilidi, N.E. Kushlinskii*

**ELISA study of matrix metalloproteinases 2, 7, 9 and their type 2 tissue inhibitor in the tumors of gastric cancer patients: clinical and pathologic correlations** ..... 323

*S.V. Lishchuk, E.A. Dubova, K.A. Pavlov, Yu.D. Udalov*

**Clinical and morphological characteristics of type 1 and 2 autoimmune pancreatitis** ..... 330

*V.V. Neroev, S.V. Saakyan, A.G. Amiryan, A.Yu. Tsygankov, A.M. Burdenny, V.I. Loginov, M.R. Khlgatyan*

**Long-term survival of uveal melanoma patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations** ..... 338

*T.G. Sedova, A.N. Khlebnikova*

**Clinical and morphological features of the leukoplakia in the Perm region** ..... 347

*Yu.V. Liskova, A.A. Stadnikov, S.P. Salikova*

**Gender particulars of morphological phenotypes of the right atrial appendage myocardium in patients with chronic heart failure who underwent an open heart surgery** ..... 355

### Clinical Cases

*I.A. Kazantseva, L.E. Gurevich, M.A. Bobrov*

**Rare clinical cases of "combined" skin carcinomas in cadaver renal allograft recipients** ..... 367

*E.A. Dubova, K.A. Pavlov, S.V. Lishchuk, A.S. Tertychnyi, A.A. Bakhvalova, D.V. Bryunin*

**Wolffian tumor: a case report and a literature review** ..... 374

*E.V. Bondarenko, L.E. Gurevich, I.V. Kotova*

**Clinical observation of metastatic thyroid disease in a patient with breast cancer** ..... 379

*A.G. Amiryan, O.G. Panteleeva, A.M. Maybogin, A.Yu. Tsygankov, S.V. Saakyan*

**Choroidal melanoma, simulating an optic nerve tumor: a clinical case** ..... 384

*E.E. Grishina*

**Kaposi's sarcoma with the eyelid involvement (6 clinical cases)** ..... 390

Subscription index 81988  
in the united Pressa Rossii catalogue

The journal is indexed by Russian Index of Scientific  
Citation (RISC): [www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)

© 2018 MONIKI  
[www.monikiweb.ru](http://www.monikiweb.ru)

ISSN 2072-0505 (print)  
ISSN 2587-9294 (online)

The journal is registered by Federal Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications. Registration certificate ПИ № ФС77-34730 was issued on December 23, 2008.

Since 2001 the Almanac of Clinical Medicine is included in the List of leading referred journals, recommended by VAK (Higher Attestation Committee) for publication of scientific results of dissertations for the degrees of doctors and candidates of sciences.

Editorial board and the editors are not responsible for claims made in the advertisements published in the journal.

All articles published in this journal are protected by copyright, which covers the exclusive rights to reproduce and distribute the article. No material published in this journal may be reproduced photographically or stored on microfilm, in electronic data base, on video discs, etc., without first obtaining written permission from the publisher (respective of the copyright owner if other than MONIKI).

#### Editorial Office

Almanac of Clinical Medicine, MONIKI,  
61/2-8 Shchepkina ul., Moscow, 129110,  
Russian Federation. Tel.: +7 (495) 688 32 41  
E-mail: [o\\_parpara@monikiweb.ru](mailto:o_parpara@monikiweb.ru)  
[www.almclinmed.ru](http://www.almclinmed.ru)



IFDC MOSCOW  
2018

4–5 октября 2018 года

VIII Межрегиональный форум  
дерматовенерологов  
и косметологов

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

### Форум проводится под патронатом:

- Правительства Москвы
- Департамента здравоохранения города Москвы;
- Национального альянса дерматологов и косметологов;
- Кафедры кожных болезней и косметологии ФДПО ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России;
- Московского научно-практического центра дерматовенерологии и косметологии ДЗМ.

Конгресс-оператор:



ООО «КСТ Интерфорум»  
Москва, ул. Профсоюзная, д. 57  
телефон: +7 (495) 722-64-20  
электронная почта: [mail@interforum.pro](mailto:mail@interforum.pro)  
Официальный сайт Форума -  
<http://www.mosderma.ru/>

### Основные направления:

- Организационно-правовые вопросы оказания помощи по профилю «дерматовенерология» и «косметология» в Москве: стратегия развития здравоохранения и совершенствование нормативной базы.
- Фундаментальные исследования в дерматовенерологии.
- Новое в диагностике, лечении и профилактике заболеваний кожи.
- Аллергология и иммунология.
- Современные тенденции диагностики, лечения и профилактики инфекций, передаваемых половым путем.
- Клиническая и лабораторная микология.
- Детская дерматология.
- Трихология: актуальные вопросы диагностики, терапии и реабилитации.
- Дерматоонкология.
- Эстетическая медицина: техники, протоколы, технологии
- Комбинированные и сочетанные методы в косметологии: контурная инъекционная пластика, ботулинотерапия, мезотерапия, пилинги, PRP, тредлифтинг.
- Лазеро- и фототерапия в дерматологии и косметологии.



Оригинальная статья

# Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных

Гуревич Л.Е.<sup>1</sup> • Казанцева И.А.<sup>1</sup>

**Цель** – комплексный клинко-морфологический анализ спектра нейроэндокринных опухолей (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) согласно новой классификации Всемирной организации здравоохранения (2017): состав пациентов, гормональный статус, морфологические критерии злокачественности, экспрессия рецепторов к соматостатину 2 (ССР 2) и 5-го типов (ССР 5), выбор тканеспецифических маркеров для дифференциальной диагностики первичной локализации НЭО в ПЖ по метастазам без известного первичного очага.

**Материал и методы.** Материалом исследования послужили 472 образца ткани НЭО ПЖ от пациентов. Морфологический анализ включал гистологический и иммуногистохимический методы исследования со спектром антител к хромогранину А, синаптофизину, CD56, инсулину, глюкагону, соматостатину, гастрину, кальцитонину, адренокортикотропному гормону (АКТГ), серотонину, панкреатическому полипептиду, цитокератинам (ЦК) широкого спектра, ЦК 7 и 19, р53, Ki-67, ССР 2 и ССР 5, PDX-1, Isl-1, NESP-55. **Результаты.** НЭО ПЖ встречались у женщин в 2,3 раза чаще, чем у мужчин (2,3:1). Были верифицированы 299 (63,3%) инсулином, 134 (28,4%) нефункционирующих НЭО, 28 (5,9%) гастрином

и 1,8% редких опухолей (соматостатином, «кальцитонином» и АКТГ-продуцирующих). Метастазы были выявлены в 16,5% случаев. Синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа был подтвержден у 11,9% пациентов с НЭО ПЖ, а у пациентов в возрасте до 30 лет – в 30,8% случаев. Множественные опухоли (от 2 до 10) у 32 пациентов были на момент установления диагноза или возникали через 7–18 лет после операции. ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, из них 54,4% с метастазами. Реже всего (в 5,7% случаев) метастазы были при инсулиномах, из них 41,2% были ЦК19-позитивными. Метастазы в гастриномах, «кальцитониномах», АКТГ-продуцирующих опухолях, соматостатиномах встречались в 70,4, 66,7, 100 и 100% случаев, ЦК19-позитивными были 85,2, 66,7, 66,7 и 100% опухолей соответственно. Экспрессия ССР 2 наблюдалась во всех гастриномах и «кальцитониномах», в 90,5% «глюкагоном», 85,7% «пипом», 66,7% соматостатином; экспрессия ССР 5 отмечена значительно реже. PDX-1-позитивными были 86,3% исследованных опухолей, все (100%) соматостатиномы, 97,4% инсулином, 92,3% гастрином, 83,3% «пипом», 80% нефункционирующих НЭО, PDX-1-негативными – все (100%) «кальцитониномы»

и 57,1% нефункционирующих «глюкагоном». Isl-1 и NESP-55-позитивными были 83,3 и 90,9% НЭО ПЖ. **Заключение.** Комплексное морфологическое и иммуногистохимическое исследование НЭО ПЖ позволяет правильно поставить диагноз, оценить прогноз и выбрать наиболее эффективное лечение. Злокачественный потенциал НЭО ПЖ зависит от иммунофенотипа клеток, он выше при ко-экспрессии маркеров нейроэндокринной и протоковой дифференцировки (ЦК19) и при продукции эктопических гормонов.

**Ключевые слова:** нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, степень злокачественности, цитокератин 19, рецепторы к соматостатину, тканеспецифические маркеры

**Для цитирования:** Гуревич ЛЕ, Казанцева ИА. Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):298–313. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313.

Поступила 05.03.2018;  
принята к публикации 13.06.2018



**П**оджелудочная железа (ПЖ) – временно экзокринный и эндокринный орган. Именно этим определяется необычайно широкий спектр опухолей, возникающих в ПЖ, а также трудности их диагностики. Большинство (до 90%) опухолей ПЖ имеют протоковую дифференцировку: 80% из них приходится на протоковые аденокарциномы, еще 10% – на такие редкие типы, как слизистый (муцинозный), железисто-плоскоклеточный и перстневидно-клеточный рак, серозно-кистозные, муцинозно-кистозные и внутрипротоковые папиллярно-муцинозные опухоли. Аденокарциномы ПЖ обычно развиваются у людей старше 50–60 лет, а все остальные типы опухолей – в более молодом возрасте. Опухоли не протокового, а иного гистогенетического происхождения – нейроэндокринные (НЭО), солидно-псевдопапиллярные, ацинарноклеточные, панкреатобластомы, недифференцированные карциномы – составляют до 10% всех опухолей ПЖ. Верификация редких типов новообразований ПЖ в большинстве случаев требует использования современных методов морфологической диагностики, в первую очередь иммуногистохимического (ИГХ) исследования. В этой связи важно отметить, что успешное применение таргетной терапии возможно только на основе уточненного морфологического диагноза с определением иммунофенотипа опухоли, степени ее злокачественности, прогноза клинического течения и выявления клеточных мишеней.

Учитывая относительную редкость НЭО и сравнительно медленный их рост, эпидемиологию этих опухолей лучше всего изучать за достаточно большой период и на базе крупных реестров. Всеобъемлющим источником подобной информации служит регистр по оценке выживаемости, эпидемиологии и конечных результатов (The National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program), основанный Американским национальным институтом рака в 1973 г. и обновляемый ежегодно [1]. С 2004 г. этот регистр постоянно фиксирует увеличение заболеваемости НЭО. В немалой степени это связано с улучшением методов диагностики (компьютерная томография, эндоскопия, биохимическое и морфологическое исследование). Кроме того, для НЭО были разработаны и приняты универсальные классификации степени злокачественности (Grade, G), что также способствовало улучшению диагностики и выявлению заболевания на более ранних стадиях. Так, за период с 1973 по 2012 г. число выявленных новых

**Гуревич Лариса Евсеевна** – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>  
 ✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–13, Российская Федерация.  
 Тел.: +7 (495) 631 74 22.  
 E-mail: larisgur@mail.ru

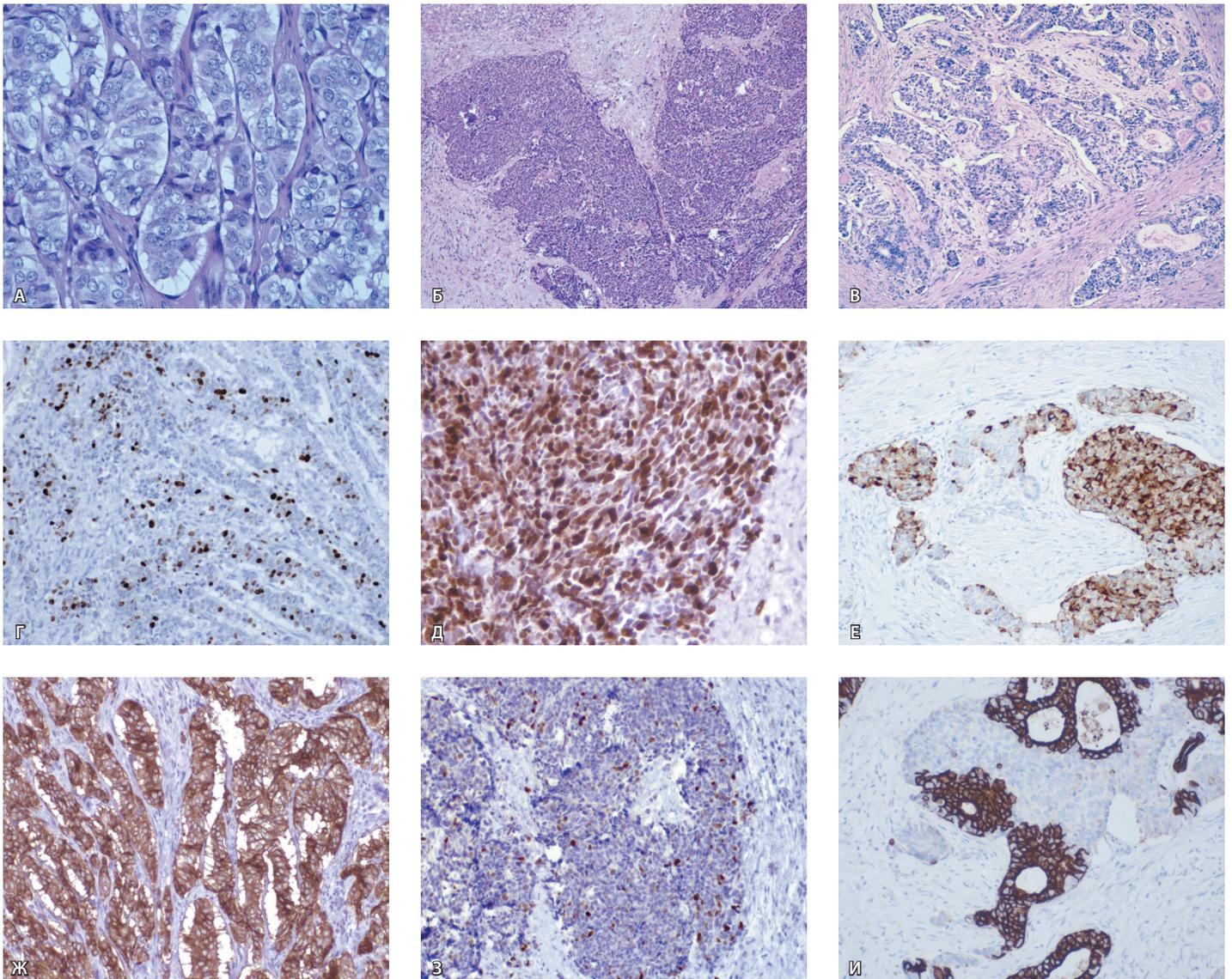
**Казанцева Ирина Александровна** – д-р мед. наук, профессор, руководитель патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

случаев НЭО выросло в 6,4 раза (с 1,09 до 6,98 на 100 тыс. населения). Существенен этот показатель и для НЭО разных локализаций: для карциноидов легких он составил 1,49, для НЭО ПЖ и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – 3,56, а для метастазов НЭО неизвестной первичной локализации – 0,84. Количество НЭО в популяции растет не только неуклонно, но и опережающими темпами по сравнению с другими типами опухолей, особенно карциноидами желудка, легких и прямой кишки, которые легче обнаружить на ранних стадиях их роста. В частности, с 1993 по 2012 г. в 15 раз увеличилось число выявляемых НЭО желудка, но только вдвое – опухолей слепой кишки [1, 2].

НЭО ПЖ составляют большинство функционирующих НЭО пищеварительного тракта и до 2–5% всех опухолей ПЖ. Это очень пестрая группа опухолей – по строению, функциональной активности, иммунофенотипу и спектру продуцируемых гормонов. Большинство (70–75%) функционирующих НЭО ПЖ составляют инсулиномы, реже встречаются гастриномы, «глюкагономы», соматостатиномы, очень редко – випомы, опухоли, секретирующие адреноректоротропный гормон (АКТГ), серотонинпродуцирующие (карциноиды), а также опухоли, продуцирующие кальцитонин, гормон роста, пролактин и некоторые другие гормоны, в норме не характерные для этого органа (эктопические). Клинически нефункционирующие (НФ), «бессиндромные» НЭО ПЖ представляют собой самую сложную для установления диагноза группу опухолей. Именно в случае НФ НЭО ПЖ чаще всего допускаются диагностические ошибки, а пациентов либо признают неоперабельными и они не получают адекватной помощи, либо их лечат от другого заболевания (например, от аденокарцином). Среди НФ НЭО ПЖ часто встречаются опухоли, секретирующие панкреатический полипептид, так называемые пипомы, а также секретирующие любые гормоны в количествах, недостаточных для проявления гиперфункциональных эндокринных синдромов.

Что касается определения степени дифференцировки и степени злокачественности (Grade, G) НЭО, в 2000 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) приняла классификацию НЭО ЖКТ и ПЖ, где они были разделены на три основные группы: высокодифференцированные (ВД) эндокринные опухоли низкой и неопределенной степени злокачественности, а также низкодифференцированные (НД) нейроэндокринные

<sup>1</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



**Рис. 1.** Высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль Grade 3 (А, ×400; Г, ×25; Ж, ×250). Низкодифференцированная нейроэндокринная карцинома Grade 3 (Б, ×125; Д, ×250; З, ×125). Смешанная нейроэндокринная-нейроэндокринная опухоль (MiNEN) (В, ×125; Е, ×250; И, ×250). Окраска гематоксилином и эозином (А, Б, В), иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67 (Г, Д), хромогранину А (Е), рецепторам к соматостатину 2-го типа (Ж), p53 (З), цитокератину 7 (И); микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич

карциномы (НЭК) высокой степени злокачественности. Затем классификация НЭО ПЖ была усовершенствована [3], опухоли разделили по степени их злокачественности (G) на 3 группы – G1, G2 и G3. В соответствии с этой классификацией в группы G1–G2 вошли ВД НЭО ПЖ, а в группу G3 – НД НЭК, мелкоклеточный и крупноклеточный варианты. Определение Grade НЭО базируется на двух важнейших молекулярно-клеточных параметрах, которые отражают скорость деления опухолевых клеток, а следовательно, степень

злокачественности опухоли: индексах митотической и пролиферативной активности опухолевых клеток (индекс Ki-67). В новейшую классификацию НЭО ПЖ (ВОЗ, 2017) [4] внесены изменения, которые в основном касаются группы G3 (рис. 1А, Б, Г, Д, Ж, З). Введена совершенно новая градация – «высокодифференцированная НЭО ПЖ Grade 3», которой раньше не было ни в одной из классификаций, при этом сохранилась и группа «низкодифференцированная нейроэндокринная карцинома Grade 3» (рис. 1Б, Д, З).



Таким образом, согласно классификации ВОЗ, 2017 [4], выделяют следующие группы:

- ВД НЭО G1/G2/G3;
- НД НЭК G3, мелкоклеточный и крупноклеточный варианты;
- смешанная нейроэндокринная-ненейроэндокринная опухоль (MiNEN).

В табл. 1 приведены те основные критерии, которые позволяют отличить ВД НЭО ПЖ G3 от НД НЭК G3: высокодифференцированная морфология опухоли (рис. 1А), экспрессия в клетках опухоли рецепторов к соматостатину 2-го типа (ССР 2) (в 80% случаев по сравнению с 8% в НД НЭК) (рис. 1Ж), экспрессия генов *DAXX*, *ATRX*, *p53* (рис. 13) и *RBI* [4–8]. Гены-супрессоры *ATRX* и *DAXX* кодируют ядерные белки, которые, взаимодействуя друг с другом, способствуют ремоделированию теломерных и перичентромерных участков хроматина. Мутации, возникающие в этих генах, коррелируют с уменьшением экспрессии соответствующих протеинов и выявляются в 45% спорадических ВД НЭО ПЖ, а также у носителей наследственного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1-го типа (МЭН-1) [9].

НЭК G3 в ПЖ встречаются сравнительно редко, это очень агрессивные опухоли, разнообразные и по гормональной продукции, и по клинической симптоматике. Диагноз смешанных опухолей ПЖ (MiNEN) ставится только после ИГХ-исследования, поскольку в этих опухолях сочетаются два компонента или более с разным типом дифференцировки – протоковым, ацинарным и эндокринным, каждый из которых должен быть верифицирован, при этом эндокринный компонент должен составлять не менее 30% всей ткани опухоли (рис. 1В, Е, И).

Очень важной и актуальной при обследовании пациентов с НЭО ПЖ представляется диагностика наследственных синдромов, в первую очередь МЭН-1. Синдром обусловлен мутацией в перичентрической области хромосомы 11 (11q13), наследуется по аутосомно-доминантному типу, реже может быть результатом спонтанной мутации (которая затем передается по наследству), приводит к нерегулируемой пролиферации эндокринных клеток. МЭН-1 сопровождается поражением обязательной триады органов – синхронная или асинхронная гиперплазия и/или опухоли 1–4 паращитовидных желез, НЭО ПЖ и передней доли гипофиза. Реже синхронно или асинхронно возникают НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка, тимуса, легких, щитовидной железы, надпочечников. По современным

**Таблица 1.** Критерии деления нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы на высокодифференцированные опухоли и низкодифференцированные карциномы Grade 3 (классификация Всемирной организации здравоохранения, 2017 [4])

Тип	Ki-67	p53	RBI	SSR2A	ATRX+	DAXX+
ВД НЭО (NET) G3 высокодифференцированная морфология	21–36	0	0	78	11	33
НД НЭК (NEC) G3 низкодифференцированная морфология	21–90	75	45	8	0	0

ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли, НД НЭК – низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы

данным, у 15–25% пациентов НЭО ПЖ возникают в рамках синдрома МЭН-1 [4].

Целью нашего исследования был анализ спектра НЭО ПЖ, имеющих в нашей базе данных, по возрастному составу пациентов и наличию у них наследственного синдрома МЭН-1; по гормональному статусу и степени злокачественности опухолей; выявление морфологических критериев злокачественности, которые позволяют прогнозировать клиническое течение заболевания; выявление экспрессии ССР 2 и ССР 5 как клеточных мишеней для прогнозирования эффективности лечения этих опухолей; изучение перспективных тканеспецифических маркеров, которые позволяют в большинстве случаев по метастазам НЭО ПЖ без известного первичного очага верифицировать их первичную локализацию.

## Материал и методы

Материалом исследования послужили 472 образца ткани операционных биопсий или диагностических биопсий метастазов НЭО ПЖ в лимфатические узлы или печень. Материал получен от пациентов, оперированных и обследованных в ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского с 2000 по 2017 г., а также пациентов из других лечебных учреждений Российской Федерации, консультированных в патологоанатомическом отделении ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского.

Морфологический анализ включал гистологический и ИГХ методы исследования. Материал фиксировали в 10% растворе формалина, затем заливали в парафин по обычной методике. Срезы депарафинировали по стандартной схеме и окрашивали гематоксилином и эозином. Для ИГХ-исследования серийные срезы толщиной 3–5 мкм наносили на предметные стекла с адгезивным покрытием, ИГХ-реакцию проводили с использованием автоматических систем закрытого (Ventana

**Таблица 2.** Характеристика спектра нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы у пациентов разного возраста без наследственных синдромов или с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1-го типа

Тип опухоли	Всего, абс.	Количество, % (абс.)	Пациенты в возрасте до 30 лет, % (абс.)	Пациенты с МЭН-1, % (абс.)	Пациенты с МЭН-1 до 30 лет, % (абс.)
Все НЭО ПЖ	472		16,5 (78/472)	11,9 (56/472)	30,8 (24/78)
Инсулиномы	299	63,3 (299/472)	18,4 (55/299)	13 (39/299)	25,4 (14/55)
Гастроинномы	28	5,9 (28/472)	17,9 (5/28)	28,6 (8/27)	25 (2/8)
Соматостатиномы	3	0,6 (3/472)	0	0	0
«Кальцитониномы»	3	0,6 (3/472)	0	0	0
АКТГ-продуцирующие	3	0,6 (3/472)	0	0	0
Нефункционирующие	134	28,4 (134/472)	12,7 (17/134)	9,7 (13/134)	47,1 (8/17)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, МЭН-1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа, АКТГ – адренкортикотропный гормон

BenchMark Ultra, Roche) или открытого типа (Thermo Fisher, Великобритания) по стандартным протоколам, а в отдельных случаях (при малом объеме материала в диагностических биопсиях) ручным методом. При использовании автостейнера открытого типа депарафинирование срезов и восстановление антигенности проводили в буфере pH 9.0 в PT Module (Thermo Scientific, Великобритания). Для ИГХ-исследования использовали спектр антител: готовые к использованию (RTU) – к хромогранину А (клон LK2H10), синаптофизину (SP11), CD56 (MRQ-42), гормонам – инсулину, глюкагону, соматостатину, гастрину, кальцитонину, АКТГ, цитокератинам (ЦК) широкого спектра (клон AE1/AE3 + PCK26), ЦК7 (клон SP52), ЦК19 (клон A53-B/A2.26), p53 (клон DO7); концентрированные антитела – к серотонину (клон 5HT-H209, Cell Marque), панкреатическому полипептиду (поликлон, Abcam, разведение 1:500), Ki-67 (мышинный моноклон MIB1, DAKO, или кроличий моноклон, RTU, 30-9, Roshe), ССР 2 (кроличьи моноклональные антитела, клон ID-EPR3340, Epitomics, США, разведение 1:100), ССР 5 (кроличьи моноклональные антитела, клон UMB4, Abcam, разведение 1:100), PDX-1 (клон EP-139, Epitomics, США, разведение 1:100), Isl-1 (клон IH9, GeneTex, разведение 1:100), NESP-55 (клон C2C3, GeneTex, разведение 1:100).

Экспрессию цитоплазматических маркеров учитывали полуколичественным методом по стандартным методикам: положительной считали экспрессию более чем в 20% опухолевых клеток, очаговой – менее чем в 20% клеток; подсчет индекса пролиферации Ki-67 проводили по стандартной методике как процент (%) клеток, ядра которых метятся этим маркером, на 100 опухолевых

клеток при большом увеличении микроскопа (× 400), при учете 500–2000 опухолевых клеток в наиболее активно пролиферирующих участках, так называемых горячих точках. Учет экспрессии ССР проводили по методу M. Volante и соавт. [10]: для ССР 2 положительной реакцией считали мембранную экспрессию, для ССР 5 учитывали мембранно-цитоплазматическую экспрессию. Клинически значимой считали положительную реакцию 50–75% (2+) и 75–100% опухолевых клеток (3+), слабо выраженную или очаговую реакцию (1+) оценивали как отрицательную.

## Результаты

Клинико-морфологическая характеристика нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы

Нами были проанализированы 472 случая НЭО ПЖ (табл. 2). Эти опухоли встречались в 2,3 раза чаще у женщин, чем у мужчин: у 332 женщин и 140 мужчин (2,3:1), возраст пациентов варьировал от 2 месяцев до 80 лет. После ИГХ-исследования были верифицированы 299 (63,3%) инсулином с синдромом гипогликемии, 134 (28,4%) клинически НФ НЭО, 28 (5,9%) гастрином с синдромом Золлингера – Эллисона, а на более редкие типы опухолей (соматостатиномы, «кальцитониномы» и АКТГ-продуцирующие) в сумме пришлось до 2% (по 0,6%).

Метастазы НЭО ПЖ были выявлены в 78 (16,5%) случаях, из них в печень – в 47 (60,2%), в лимфатические узлы – в 16 (29,5%), множественные, в том числе отдаленные метастазы (в желудок, головной мозг, кожу, кости) – в 15 (19,2%) наблюдениях. У одних пациентов метастазы имелись уже на момент постановки диагноза НЭО

**Таблица 3.** Экспрессия цитокератина 19 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы различных типов

Тип опухоли	Количество, абс.	Всего НЭО с метастазами, абс. (%)	ЦК19-позитивные опухоли, абс.	ЦК19-позитивные опухоли с метастазами, абс. (%)
Все НЭО ПЖ	472	16,5 (78/472)		
из них с известным статусом ЦК19	233	28,3 (66/233)	102	54,4 (55/102)
Инсулиномы	299	5,7 (17/299)	17	41,2 (7/17)
Гастроиномы	27	70,4 (19/27)	27	85,2 (23/27)
Соматостатиномы	3	100 (3/3)	3	100 (3/3)
«Кальцитониномы»	3	66,7 (2/3)	2	66,7 (2/3)
Кортикотропиномы	3	100 (3/3)	2	66,7 (2/3)
Нефункционирующие	134	33,6 (45/134)	61	47,5 (29/61)

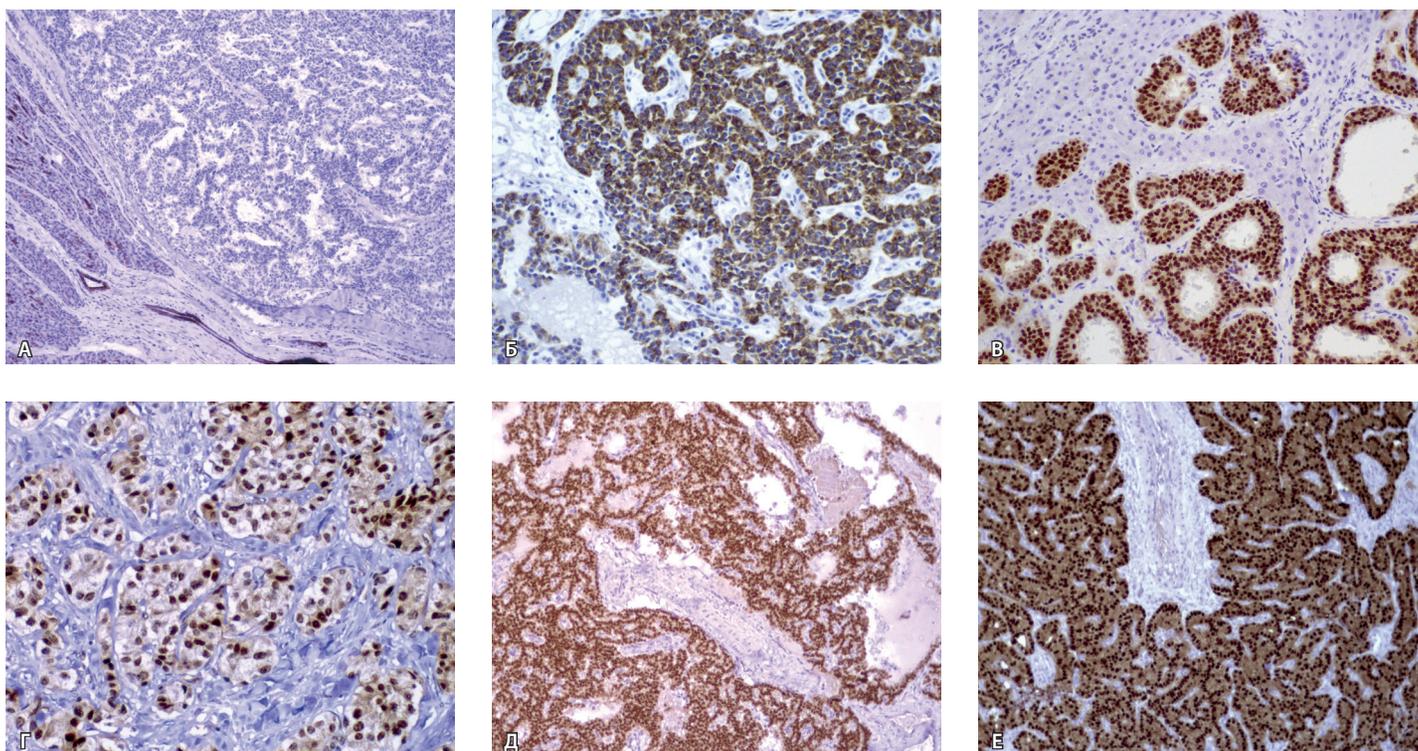
НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ЦК19 – цитокератин 19

ПЖ, у других были выявлены через 1–19 лет после операции или служили первой манифестацией НЭО без известного первичного очага. Тринадцать человек с метастазами на момент установления диагноза умерли в течение 1–9 лет от прогрессирования заболевания, 12 пациентов живы в течение 1–6 лет после операции на фоне прогрессирования и диссеминации процесса, судьба остальных 53 в настоящее время неизвестна. Следует пояснить, что появление метастазов и особенности клинического течения НЭО ПЖ удалось проследить только у тех пациентов, о которых имелась достоверная и полноценная информация или если они в течение ряда лет наблюдались в одном лечебном учреждении. Таким образом, очевидно, что данные о прогрессировании НЭО ПЖ, приведенные в настоящей работе, не отражают реальной картины. Основная причина – отсутствие в Российской Федерации государственного регистра пациентов с НЭО, в том числе с НЭО ПЖ. Сейчас под эгидой Медицинского общества по лечению нейроэндокринных опухолей (МОЛНЭО) предпринята попытка создать такой регистр. Вероятно, в ближайшее время мы сможем получить более объективные данные по особенностям клинического течения заболевания и выживаемости пациентов с НЭО различной локализации.

Синдром МЭН-1 был клинически и/или генетически подтвержден у 56 (11,9%) из 472 пациентов с НЭО ПЖ (см. табл. 2). Как известно, среди молодых пациентов число носителей наследственных синдромов, ассоциированных с НЭО ПЖ, существенно выше. В нашей выборке пациентов в возрасте до 30 лет было 78 (16,5%)

человек, из которых у 24 (30,8%) был поставлен диагноз синдрома МЭН-1. Это почти втрое чаще, чем в общей группе пациентов с НЭО ПЖ. У молодых пациентов с синдромом МЭН-1 наиболее часто встречались НФ НЭО ПЖ (47,1%), которые не давали никаких гиперфункциональных эндокринных синдромов. Еще у 2 пациенток был установлен диагноз наследственного синдрома Гиппеля – Линдау (девочки 14 и 16 лет), у 1 – туберозный склероз (девочка 12 лет). Поскольку до сих пор пациентов с НЭО ПЖ редко целенаправленно обследуют на наличие у них наследственных синдромов, приведенные выше цифры явно занижены. В частности, у 4 из наших пациентов, которые умерли от послеоперационных осложнений или от другой патологии, синдром МЭН-1 с поражением сразу нескольких эндокринных органов был впервые установлен на аутопсии.

Множественные опухоли были обнаружены у 32 пациентов, у 24 из них в рамках синдрома МЭН-1, еще у 8 этот синдром при генетическом исследовании не подтвердился или это исследование по разным причинам не проводилось. Множественные опухоли (от 2 до 12) у одних пациентов имелись уже на момент установления диагноза, у других новые опухоли возникали через 7–18 лет после операции. В 10 случаях у пациентов с синдромом МЭН-1 поражение характерной триады органов (паращитовидных желез, гипофиза и ПЖ) сочеталось с НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка и легких, а также с нейроэндокринными опухолями – папиллярным раком щитовидной железы (3 случая), гастроинтестинальной стромальной опухолью желудка и двенадцатиперстной кишки (3 случая), раком



**Рис. 2.** Экспрессия маркеров в нейроэндокринных опухолях (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) различных типов: **А** – цитокератин19-негативная инсулинома: экспрессия маркера в клетках опухоли отсутствует (× 125); **Б** – цитокератин19-позитивная нефункционирующая НЭО, экспрессия цитокератина 19 в цитоплазме опухолевых клеток (× 250); **В** – экспрессия PDX-1 в ядрах клеток метастаза в печень гастриномы ПЖ (× 250); **Г** – экспрессия PDX-1 в ядрах и цитоплазме клеток инсулиномы ПЖ (× 250); **Д** – экспрессия Isl-1 в ядрах клеток инсулиномы (× 400); **Е** – экспрессия NESP-55 в ядрах клеток нефункционирующей НЭО ПЖ (× 250); микрофото из личного архива Л.Е. Гуревич

желудка (1 случай). У пациенток с синдромом Гиппеля – Линдау, кроме НЭО ПЖ, были обнаружены феохромоцитомы надпочечников.

Проследить дальнейшую судьбу большинства пациентов, оперированных в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и других клиниках Москвы и Российской Федерации, чаще всего не представляется возможным. По имеющимся у нас данным, рецидивы с появлением новых опухолей у 9 пациентов с МЭН-1 наблюдались через 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12 и 20 лет после первой операции.

Особенности иммунофенотипа нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, имеющие прогностическое значение

В более ранних работах мы описали значение выявления экспрессии ЦК19 непосредственно в цитоплазме клеток НЭО ПЖ как фактора прогноза менее благоприятного клинического течения заболевания [11, 12]. В настоящей работе мы обобщили значительно более обширный материал и за более длительный период наблюдения. Как видно из табл. 3, НЭО ПЖ с метастазами в общей

группе составили 16,5%. Из НЭО ПЖ, в которых определялся статус экспрессии ЦК19 (233 случая), ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, при этом 54,4% из них составили опухоли с метастазами (по сравнению с 15,5% в общей группе) (рис. 2 А, Б). Наиболее редко метастазы (как правило, в печень) выявлялись при инсулиномах (в 5,7% случаев), 41,2% из которых были ЦК19-позитивными. Чаще всего метастазировали НЭО ПЖ, которые продуцировали эктопические для ПЖ гормоны – гастриномы, «кальцитониномы», АКГГ-продуцирующие опухоли, а также соматостатиномы (хотя этот тип опухолей продуцирует островковый гормон) – в 70,4, 66,7, 100 и 100% соответственно, из них ЦК19-позитивными были 85,2, 66,7, 66,7 и 100% исследованных опухолей. Среди НФ НЭО ПЖ, куда вошли как опухоли без выявленного гормона, так и клинически нефункционирующие «глюкагономы» и «пипомы», метастазы были выявлены в 33,6% случаев, 45,5% из которых были ЦК19-позитивными (см. рис. 2 Б).

Как упоминалось выше, обычно проследить дальнейшую судьбу пациентов после удаления



**Таблица 4.** Экспрессия цитокератина 19 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы различной степени злокачественности (Grade)

Тип опухоли	ВД НЭО G1	ВД НЭО G2A	ВД НЭО G2B	ВД НЭО G3
Всего	127	87	34	13
НЭО ПЖ с метастазами	1,4 (1/73)	30,7(23/75)	84,4 (27/33)	92,3 (12/13)
НЭО ПЖ с известным ЦК19-статусом	73	75	33	13
ЦК19-позитивные НЭО ПЖ с метастазами	5,2 (1/19)	46,7 (21/45)	83,3 (25/30)	92,3 (12/13)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ЦК19 – цитокератин 19, ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли, ВД НЭО – высокодифференцированные нейроэндокринные карциномы

**Таблица 5.** Экспрессия рецепторов к соматостатину 2 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

Функциональные типы НЭО ПЖ	ССР 2, абс. (%)	ССР 5, абс. (%)
Инсулиномы (n = 87)	48,3 (42/87)	23,8 (19/80)
Гастринномы (n = 12)	100 (12/12)	63 (7/11)
«Кальцитониномы» (n = 2)	100 (2/2)	0 (0/2)
Соматостатиномы (n = 3)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)
«Глюкагономы» нефункционирующие (n = 21)	90,5 (19/21)	52,4 (11/21)
«Пипомы» (n = 7)	85,7 (6/7)	25 (1/4)
Нефункционирующие (n = 73)	58,9 (43/73)	24,2 (15/62)

НЭО ПЖ – нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы, ССР 2 – рецепторы к соматостатину 2-го типа, ССР 5 – рецепторы к соматостатину 5-го типа

НЭО ПЖ без выявленных метастазов не удастся. Имеется информация о 9 пациентах с установленным ЦК19-позитивным статусом опухоли, но без выявленных на момент операции метастазов. У них метастазы в печень диагностировали через 2–6 лет после операции. Наши данные свидетельствуют о том, что иммунофенотип НЭО ПЖ с ко-экспрессией в одних и тех же клетках маркеров нейроэндокринной дифференцировки и маркера протоковой дифференцировки ЦК19 является фактором неблагоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Опухоли с подобным иммунофенотипом обладают более злокачественным биологическим потенциалом, чем ЦК19-негативные, поскольку они происходят от менее дифференцированных полипотентных предшественников. Важно отметить, что в НЭО ПЖ никогда не наблюдалось ко-экспрессии

нейроэндокринных маркеров с другим маркером эпителия протоков ПЖ – ЦК7, который характеризует иммунофенотип опухолей ПЖ протокового происхождения (аденокарцином, серозно-кистозных, муцинозно-кистозных и внутрипротоковых папиллярно-муцинозных).

Мы также провели сравнительный анализ экспрессии ЦК19 в НЭО ПЖ разной степени злокачественности (Grade) (табл. 4). Часть случаев в нашей выборке относились к тому периоду времени, когда еще не применяли современную систему градирования с обязательным определением индекса Ki-67, поэтому они были исключены из анализа. По нашему мнению, группа ВД НЭО ПЖ G2 в классификации ВОЗ, 2017 [4] слишком обширная и включает разные по прогнозу и клиническому течению опухоли с очень широким интервалом пороговых значений индекса Ki-67 – от 3 до 20%. Мы условно разделили ее на 2 подгруппы: ВД G2A с Ki-67 до 10% и ВД G2B с Ki-67 от 10 до 20%. Из табл. 4 видно, что метастазы были выявлены в 1,4% ВД НЭО ПЖ G1, в 30,7% ВД НЭО G2A, но уже в 84,4% ВД НЭО G2B и в 92,3% ВД НЭО G3.

Обобщая полученные в этом разделе данные, можно сделать следующие выводы:

1) ЦК19-позитивный статус НЭО ПЖ обычно ассоциируется с более злокачественным биологическим потенциалом (Grade) опухоли, что позволяет рассматривать его как фактор прогноза неблагоприятного клинического течения заболевания с высокой вероятностью наличия метастазов, даже если они не были выявлены на момент удаления опухоли;

2) фактором неблагоприятного прогноза клинического течения НЭО ПЖ является продукция опухолью эктопических для ПЖ гормонов – гастрин, кальцитонин, АКТГ, а также соматостатин;

3) исследование иммунофенотипа опухолевых клеток позволяет значительно более точно определять степень дифференцировки НЭО ПЖ, чем это возможно при рутинном гистологическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Экспрессии рецепторов к соматостатину 2 и 5-го типа в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

Установлено, что выявление экспрессии ССР 2 и ССР 5 на мембране клеток НЭО, в том числе НЭО ПЖ, тесно коррелирует с терапевтическим эффектом от применения аналогов соматостатина, которые блокируют эти рецепторы



на опухолевых клетках. Данные табл. 5 указывают на то, что гастриномы, «кальцитониномы», «глюкагономы», «пипомы» и соматостатиномы характеризуются высоким статусом экспрессии рецепторов ССР 2 (100, 100, 90,5, 85,7, 66,7% соответственно) (см. рис. 1 Ж). Реже ССР 2 экспрессировали клетки НФ НЭО, еще реже инсулином (58,9 и 48,3% соответственно). Экспрессия ССР 5 в НЭО ПЖ наблюдалась реже, чем ССР 2, преимущественно в соматостатиномах, гастриномах и «глюкагономах» (66,7, 63 и 52,4% соответственно) и редко в других типах опухолей (25% и менее). Таким образом, определение статуса экспрессии ССР 2 и ССР 5 – значимый параметр для выбора адекватной терапии, особенно в случае прогрессирующих опухолей с метастатическим поражением печени и отдаленными метастазами, когда нельзя выполнить радикальную операцию. Такие пациенты, с позитивным статусом ССР, получают аналоги соматостатина. Это позволяет продлить им жизнь и существенно улучшить ее качество на годы. Ранее мы опубликовали данные, согласно которым интенсивная экспрессия ССР 2 наиболее часто наблюдалась в менее дифференцированных вариантах НЭО ПЖ – G2B и G3 [13] (см. рис. 1 Ж). Следовательно, с увеличением степени злокачественности ВД НЭО ПЖ экспрессия этих рецепторов не уменьшалась, а во многих случаях даже увеличивалась, что очень важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов с такими опухолями.

Экспрессия тканеспецифических маркеров PDX-1, Isl-1 и NESP-55 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

В последнее время в качестве тканеспецифических маркеров НЭО ПЖ предложен целый набор маркеров, в том числе PDX-1, Isl-1 и NESP-55. В нашей работе PDX-1-позитивными были 86,3% (82/95) исследованных НЭО ПЖ, в том числе все соматостатиномы (3/3, 100%), большинство инсулином (37/38, 97,4%) (рис. 2 Г), гастрином (12/13, 92,3%) (рис. 2 В), «пипом» (5/6, 83,3%) и НФ НЭО (20/25, 80%). PDX-1-негативными были все «кальцитониномы» (2/2, 100%) и больше половины «глюкагоном» (4/7, 57,1%). Учитывая достаточно высокую специфичность PDX-1 для НЭО ПЖ, выявление его экспрессии в метастазах НЭО без известного первичного очага позволяло с большой вероятностью предположить происхождение первичной опухоли из ПЖ. В 13 из 28 случаев наше предположение подтвердилось, и у пациентов были верифицированы 3 гастриномы, 3 инсулиномы, 1 соматостатинома,

1 «пипома» и 5 НФ НЭО ПЖ. Экспрессию Isl-1 и NESP-55 мы изучали на более ограниченном материале. Иммунореактивными к этим маркерам были 83,3% (15/18) и 90,9% (10/11) исследованных НЭО ПЖ соответственно (рис. 2 Д, Е). Экспрессия всех трех исследованных маркеров обычно имела ядерную локализацию, только в инсулиномах экспрессия PDX-1 чаще всего была ядерно-цитоплазматической (рис. 2 Г).

Таким образом, все три маркера обладают достаточно высокой специфичностью для НЭО ПЖ и могут быть включены в расширенную ИГХ-панель для дифференциальной диагностики при определении локализации первичной опухоли по метастазам НЭО без выявленного первичного очага.

## Обсуждение

По нашим данным, НЭО ПЖ в 2,3 раза чаще встречались у женщин, чем у мужчин (2,3:1). Исследователи обычно публикуют анализ встречаемости НЭО вне зависимости от их локализации, одни авторы отмечают небольшое преобладание женщин (52,7%), у других пропорция между женщинами и мужчинами равная [2, 6]. Возраст манифестации НЭО ПЖ обычно варьирует в широком диапазоне: у нас – от 2 месяцев до 80 лет, в работе L.H. Tang и соавт. [6] – от 13 до 81 года.

Частота клинически выявляемых НЭО ПЖ составляет 4–12 на 1 млн, но как случайные находки на аутопсиях они обнаруживаются значительно чаще – до 1% случаев [4]. На редкие типы НЭО ПЖ – випомы, соматостатиномы, АКГТ-продуцирующие, «кальцитониномы», карциноиды приходится по 1–2% всех НЭО ПЖ [14], что мало отличается от наших данных (по 0,6%). По данным J.Y. Kim и соавт. [15], на НФ НЭО ПЖ приходится 55,3% НЭО этого органа, в их число входят опухоли, секретирующие панкреатический полипептид, кальцитонин, нейротензин и некоторые другие, которые обычно не вызывают явно выраженных эндокринных синдромов. В нашей работе доля НФ НЭО ПЖ составила 31,5%, в том числе опухоли без выявленного гормона – 28,5%, еще 0,6% – «кальцитониномы». Вместе с тем в большинстве исследований НФ НЭО ПЖ составили более половины всех НЭО этого органа. Это представляется весомым основанием, чтобы сделать вывод о том, что часть НФ НЭО ПЖ вообще не диагностируется или при их выявлении ставится ошибочный диагноз, в частности аденокарциномы, с чем мы постоянно сталкиваемся в своей повседневной консультативной практике.



В 10–30% случаев ВД НЭО ПЖ возникают в рамках наследственного синдрома МЭН-1 [3, 4], среди них преобладают клинически нефункционирующие опухоли. Вероятность возникновения рецидивов с образованием новых опухолей особенно высока у пациентов с МЭН-1, а у 15–30% из них развиваются синхронные и метасинхронные опухоли разных типов [14]. Согласно нашим данным, в общей группе пациентов синдром МЭН-1 был клинически и/или генетически подтвержден в 11,9% случаев, а среди молодых пациентов (до 30 лет) – в 30,8% случаев, то есть почти втрое чаще. У этих пациентов чаще встречались и множественные опухоли, которые у них либо уже имелись на момент операции, либо возникли через 7–18 лет после нее. Кроме поражения характерной триады органов (паращитовидных желез, гипофиза и ПЖ) у них встречались НЭО двенадцатиперстной кишки, желудка и легких, а также опухоли иного гистогенетического происхождения – папиллярный рак щитовидной железы, гастроинтестинальная стромальная опухоль желудка и двенадцатиперстной кишки, рак желудка. В настоящее время пациентов с НЭО ПЖ редко целенаправленно обследуют на наличие у них наследственных синдромов, поэтому частота МЭН-1 в популяции, особенно среди молодых пациентов, недооценена.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что НЭО ПЖ, продуцирующие эктопические для этого органа гормоны (гастрин, кальцитонин, АКТГ), являются менее дифференцированными опухолями с более агрессивным клиническим течением, чем те, которые продуцируют гормоны, в норме присущие клеткам эндокринных островков. Это согласуется с работами других авторов, которые делают вывод о том, что большинство редких НЭО ПЖ обладают более злокачественным потенциалом, чем, например, инсулиномы, они обычно метастазируют в печень, а пятилетняя выживаемость пациентов с подобными локализованными опухолями составляет 60–100%, с регионарными – 40%, а с отдаленными метастазами – не более 29% [14]. Исключение из правила о НЭО ПЖ с «эктопической» продукцией гормонов – соматостатиномы, высокий злокачественный потенциал которых еще требует своего объяснения.

Большинство НЭО ПЖ относятся к G1 и G2 с очень медленным ростом и достаточно благоприятным прогнозом. Но многолетний опыт наблюдения пациентов с подобными опухолями говорит о том, что, несмотря на их медленный рост, метастазы могут проявляться через

многие годы и даже десятилетия после операции. Низкодифференцированные варианты НЭК ПЖ (мелкоклеточные и крупноклеточные) встречаются сравнительно редко [8, 16]. В исследовании L.H. Tang и соавт. [6] среди них преобладает крупноклеточный вариант (61%). По клиническому течению эти два типа НЭК ПЖ практически не отличаются от соответствующих аналогов в легких, где они встречаются значительно чаще. По подходам к лечению НЭК ПЖ консенсуса в настоящее время не существует, а выживаемость при этих типах опухолей низкая. Так, есть публикации, где выживаемость 75% пациентов с мелкоклеточными НЭК и 50% с крупноклеточными НЭК ПЖ не превышает 12 месяцев [17], составляет  $18,6 \pm 35$  месяцев (от 1 до 120 месяцев) [6]. Другие авторы пишут о том, что пятилетняя выживаемость пациентов с НЭК ПЖ на разных стадиях заболевания не превышает 60 месяцев с момента установления диагноза, а основным фактором ее увеличения является радикальность выполненной операции [14]. Эти опухоли, как правило, нечувствительны к любой известной в наши дни терапии, большинство пациентов погибают от прогрессирования заболевания и/или обширного метастазирования. Сегодня деление НЭК ПЖ на мелкоклеточные и крупноклеточные не имеет важного клинического значения, но активно проводимые молекулярно-генетические исследования без сомнения позволят в ближайшем будущем разработать новые и более успешные лечебные подходы к ведению таких пациентов.

Важный аспект изучения НЭО ПЖ – морфологическое исследование с определением степени злокачественности опухолей и прогнозированием клинического течения заболевания. Решающим параметром при определении степени злокачественности опухоли является ее биологический потенциал, то есть степень дифференцировки опухолевых клеток. Источником возникновения большинства опухолей становятся недифференцированные полипотентные клетки, идентифицированные во многих тканях организма взрослого человека. Выделяют два типа полипотентных клеток: немногочисленную популяцию долгоживущих элементов с высоким потенциалом пролиферации и дифференцировки (истинные стволовые клетки) и более многочисленную популяцию короткоживущих элементов (коммитированные тканевые предшественники), которые происходят от первых и способны к дифференцировке в зрелые клеточные элементы со специфическими тканевыми



функциями. В ПЖ эту функцию выполняет эпителий протоков [18]. Эндокринные клетки в эмбриогенезе ПЖ происходят от тканевых предшественников. В них сочетаются признаки протоковой и эндокринной дифференцировки. Доказано, что эти предшественники эндокринных клеток способны продуцировать сразу несколько гормонов, включая не свойственные в норме островковым клеткам ПЖ: гастрин, АКТГ, кальцитонин и ряд других [19]. На конечных стадиях дифференцировки эндокринные клетки ПЖ становятся моногормональными, то есть могут продуцировать только один островковый гормон. Тканевые полипотентные клетки играют ключевую роль в процессах физиологической и репаративной регенерации, но при определенных условиях они могут направляться по пути неопластической трансформации. Полипотентные клетки ПЖ под воздействием микроокружения и посредством клеточно-клеточных и клеточно-матриксных взаимодействий могут дифференцироваться в различных направлениях, и все этапы этого процесса четко координируются клеточным геномом.

К ключевым механизмам такой координации и дифференцировки в разные типы эпителия относятся перестройку промежуточных филаментов цитоскелета эпителиальных клеток – цитокератинов. У эмбрионов человека вплоть до 28-й недели внутриутробного развития ЦК7 и 19 экспрессируют все клетки ПЖ, а на более поздних стадиях развития и во взрослом организме – только клетки протокового эпителия [18]. На различных экспериментальных моделях было доказано, что на определенных этапах дифференцировки полипотентных клеток в эндокринные клетки в них наблюдается ко-экспрессия ЦК19 и нейроэндокринных маркеров. Логично было бы предположить, что НЭО ПЖ, в иммунофенотипе которых наблюдается ко-экспрессия ЦК19 и нейроэндокринных маркеров, являются менее дифференцированными, чем опухоли с ЦК19-негативным иммунофенотипом. В настоящей работе ЦК19-позитивными были 28,3% опухолей, 54,4% из них составили опухоли с метастазами (по сравнению с 15,5% в общей группе). Наиболее редко метастазы в печень выявлялись при инсулиномах (в 5,7% случаев), но 41,2% из них были ЦК19-позитивными. Наиболее часто метастазировали НЭО ПЖ, продуцировавшие «эктопические» для ПЖ гормоны – гастриномы, «кальцитониномы», АКТГ-продуцирующие опухоли, а также соматостатиномы, – в 70,4, 66,7, 100 и 100% соответственно, из них ЦК19-позитивными были

85,2, 66,7, 66,7 и 100% исследованных опухолей. Наши данные указывают на то, что иммунофенотип НЭО ПЖ с ко-экспрессией в одних и тех же клетках маркеров нейроэндокринной дифференцировки и маркера протоковой дифференцировки ЦК19 является фактором неблагоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Метастазы были выявлены в 1,4% ВД НЭО ПЖ G1, в 30,7% ВД НЭО G2A, но уже в 84,4% ВД НЭО G2B и в 92,3% НД НЭК G3. По мнению R. Jain и соавт. [20], экспрессия ЦК19 – независимый фактор прогноза НЭО ПЖ. Данные, ранее опубликованные нами [11, 12], и данные, представленные в настоящей работе, убедительно доказывают, что экспрессия ЦК19 в НЭО ПЖ – фактор менее благоприятного прогноза и высокого риска метастазирования. Это позволяет сформулировать очень важный вывод: ИГХ-характеристика иммунофенотипа опухоли значительно точнее отражает степень ее дифференцировки, позволяет выявить менее дифференцированные варианты НЭО ПЖ и более объективно сформулировать прогноз клинического течения заболевания, чем это возможно определить при рутинном гистологическом исследовании.

К самым значимым факторам прогноза НЭО ПЖ относятся TNM стадия, нерадикальность выполненной операции, наличие метастазов, особенно в печень, а при прочих равных условиях – биологический потенциал опухоли, или Grade, который определяется по величине индекса митотического деления клеток и индекса пролиферации Ki-67. Определение этих индексов в НЭО ЖКТ и ПЖ в соответствии с классификацией ВОЗ признано золотым стандартом при оценке риска прогрессирования НЭО ПЖ, выборе тактики лечения и оценке эффективности химиотерапии. В связи со сказанным не вызывает сомнения, насколько важно правильно дифференцировать ВД НЭО G3 от НД НЭК G3. Проблемы, возникающие при диагностике этих двух типов опухолей, прежде всего обусловлены тем, что для них установлены почти одинаковые пороговые значения индекса пролиферации Ki-67 [6, 8], хотя они существенно отличаются по прогнозу и клиническому течению заболевания. Тактика дальнейшего ведения пациентов с НЭО G3 и НЭК G3 все больше становится индивидуализированной и зависит от наличия в каждой конкретной опухоли специфических клеточных мишеней, спектр которых с каждым днем становится все шире. Данные, полученные в настоящем исследовании, говорят о том, что клетки большинства «кальцитонином», «глюкагоном»,



«пипом» и соматостатином характеризуются высоким статусом экспрессии ССР 2 (100, 90,5, 85,7, 66,7% соответственно), реже эти рецепторы экспрессировали клетки НФ НЭО и инсулиномы (58,9 и 48,3% соответственно). Как мы показали ранее [13], в большинстве менее дифференцированных вариантов ВД НЭО ПЖ G2B и НЭО G3 (66,7 и 83,3% соответственно) с увеличенным индексом пролиферации (с Ki-67 более 10%) также имеется достаточно высокий уровень экспрессии ССР 2. Следовательно, с возрастанием степени злокачественности ВД НЭО ПЖ экспрессия этих рецепторов во многих случаях увеличивалась, что чрезвычайно важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов с такими опухолями. Это служит серьезным обоснованием эффективности использования аналогов соматостатина для лечения пациентов с подобными опухолями.

В настоящее время целенаправленная терапия четко адаптирована к соответствующей локализации НЭО, поэтому определение происхождения метастазов НЭО без известного первичного очага становится все более важной и актуальной задачей. Установление морфологического диагноза ВД и НД НЭО ПЖ на небольшом материале диагностической биопсии из ПЖ или из метастатического очага НЭО без известной первичной локализации часто связано с большими сложностями. Для решения этой задачи необходимо использовать самый современный алгоритм ИГХ-исследования, который обычно позволяет не только подтвердить нейроэндокринную дифференцировку метастазов, но и определить локализацию первичной опухоли [21]. Это имеет большое значение для определения объема оперативного вмешательства и для выбора оптимальной схемы терапии в неоперабельных случаях.

Для включения в ИГХ-алгоритм дифференциальной диагностики метастазов НЭО ПЖ от НЭО других локализаций были предложены различные панели маркеров: Isl-1, PAX8, NESP-55, NKX2.2, PDX-1, TTF1, CDX2. J. Коо и соавт. [22] рекомендовали четырехмаркерную панель: Isl-1, NKX6-1, PAX8, TTF1 и CDX2, где в качестве специфических для диагностики НЭО ПЖ выступали Isl-1 и PAX8. Транскрипционный фактор Isl-1 (Islet-1, инсулинсвязывающий протеин) участвует в дифференцировке нейроэндокринных клеток ПЖ. По разным данным, его экспрессия наблюдалась в 77 [23], 78,4 [24] и 82% [22] НЭО ПЖ. В работе G. Hermann и соавт. [25] экспрессия Isl-1 отмечена во всех исследованных

инсулиномах, «глиукагономах», соматостатинамах и большинстве гастрином (78%). Позже исключительная гипотетическая ценность Isl-1 как маркера, специфичного только для НЭО ПЖ, не подтвердилась, а его экспрессия была выявлена в некоторых типах НЭО вне панкреатической локализации – карциномах Меркеля, медуллярном раке щитовидной железы, мелкоклеточной НЭК легких, парагангиомах/феохромоцитомах и нейробластомах надпочечников, а также в некоторых других типах опухолей [26]. I.C. Tseng и соавт. [27] для выявления метастазов НЭО ПЖ предложили другую панель – NKX6-1, CDX2, TTF1 и Isl-1. Здесь в качестве маркера НЭО ПЖ выступал транскрипционный фактор NKX6-1, поскольку он играет критическую роль в дифференцировке бета-клеток эндокринных островков ПЖ. Экспрессия этого маркера наблюдалась в 82% ВД НЭО ПЖ и в 67% НЭО двенадцатиперстной кишки, но почти не встречалась в НЭО других локализаций. Для диагностики ВД НЭО ПЖ был предложен еще один маркер – секреторный нейроэндокринный протеин-55 (NESP-55), один из членов семейства хромогранinov. A. Srivastava и соавт. [28] показали, что экспрессия этого маркера наблюдалась в большинстве НЭО ПЖ и во всех исследованных феохромоцитомах надпочечников. Экспрессию Isl-1 и NESP-55 мы изучали на более ограниченном материале. Мы получили выраженную иммунореактивность к Isl-1 и NESP-55 в 83,3 и 90,9% исследованных НЭО ПЖ соответственно.

В последнее время очень перспективным маркером НЭО ПЖ считают фактор транскрипции PDX-1 (панкреатодуоденальный гомеобокс 1, или инсулинпромоторный фактор 1). Значение PDX-1 впервые было установлено на мышиных эмбрионах, а позже было доказано, что этот фактор – один из ключевых регуляторов дифференцировки тканей ПЖ в эмбриогенезе человека, а мутации, возникающие в гене, кодирующем этот фактор, приводят к грубым функциональным нарушениям работы данного органа. PDX-1 играет очень важную роль в регуляции экспрессии генов, ответственных за секрецию инсулина, а также в дифференцировке эндокринной и экзокринной ткани ПЖ. Это один из самых ранних из известных транскрипционных факторов, маркер «стволовых» клеток-предшественниц ПЖ [29]. В нашей группе исследованных опухолей PDX-1-позитивными были 86,3% НЭО ПЖ, в том числе все соматостатиномы (100%), большинство инсулином (97,4%), гастрином (92,3%), «пипом» (83,3%) и НФ НЭО (80%), а PDX-1-негативными – все «кальцитонинемы» и больше половины



«глюкагоном» (57,1%). Учитывая такую высокую специфичность PDX-1 для НЭО ПЖ, выявление его экспрессии в метастазах НЭО без известного первичного очага позволяет с большой вероятностью предположить происхождение первичной опухоли из ПЖ. В исследовании G. Hermann и соавт. [25] PDX-1-позитивными были 90% инсулином, 17 из 18 гастрином, 3 из 9 соматостатином, но все «глюкагономы» были к нему негативными. Yang Z. и соавт. [23], напротив, показали, что экспрессия PDX-1 наблюдалась лишь в небольшом числе НЭО ПЖ, поэтому авторы не рекомендуют использовать этот маркер для дифференцировки метастазов НЭО ПЖ. Полученные нами результаты противоречат этим выводам и свидетельствуют о высокой специфичности данного маркера для дифференциальной диагностики как НЭО ПЖ, так и их метастазов. Расхождения в результатах, полученных в разных исследованиях, часто объясняются целым рядом причин: неоднородными выборками опухолей (по нашим данным, «глюкагономы», «кальцитониномы» и некоторые НФ НЭО ПЖ также могут быть негативными к этому маркеру), использованием различных по чувствительности и специфичности антител.

Одним из самых перспективных направлений в лечении НЭО считается выявление в их клетках новых молекулярных мишеней и маркеров лекарственной чувствительности. В ряду специфических рецепторов и ферментов, отражающих чувствительность опухоли к лекарственному лечению (биотерапии, химиотерапии и таргетным препаратам), активно изучаются тимилактатсинтетазы (TS), mTOR, ген *MGMT* и некоторые другие. Данные о зависимости между молекулярным профилем опухоли и ответом на лечение сегодня только накапливаются, но очевидно, что в ближайшем будущем эта информация приобретет важное практическое значение. Все больше внимания уделяется разработке так называемой молекулярной классификации НЭО.

Она дополнит и уточнит гистологическую классификацию и тем самым поможет выбрать оптимальную терапевтическую стратегию.

## Выводы и практические рекомендации

1. Только комплексное морфологическое и ИГХ-исследование НЭО ПЖ с анализом клинических данных и анамнеза пациентов может позволить в большинстве случаев правильно поставить диагноз, оценить прогноз и правильно выбрать наиболее эффективное лечение. Это особенно важно, поскольку большинство пациентов – люди моложе 50 лет, при этом многие – моложе 30. При своевременно поставленном диагнозе эти пациенты живут долго, а подавляющее большинство из них после радикальной операции полностью излечиваются.
2. Злокачественный потенциал НЭО ПЖ (Grade) в большой степени зависит от иммунофенотипа клеток, и он выше при ко-экспрессии в них нейроэндокринных маркеров и ЦК19, а также при эктопической продукции гормонов, не свойственных островковым клеткам ПЖ (гастрина, АКТГ и других).
3. В большинстве НЭО ПЖ наблюдается выраженная экспрессия ССР 2, а по мере увеличения степени злокачественности опухолей экспрессия этих рецепторов часто даже возрастает, что очень важно учитывать при разработке тактики лечения пациентов.
4. В настоящее время выбор терапии НЭО ПЖ зависит от локализации НЭО, поэтому определение происхождения метастазов НЭО без известного первичного очага становится все более значимой и актуальной задачей. Для ее решения необходимо использовать самый современный алгоритм ИГХ-исследования, который обычно позволяет не только подтвердить нейроэндокринную дифференцировку метастазов, но и с помощью тканеспецифических маркеров определить локализацию первичной опухоли. ☺

### Конфликт интересов

Л.Е. Гуревич за прошедшие до публикации 36 месяцев выступала с лекциями от компании «Ипсен». И.А. Казанцева декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с написанием данной статьи.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

## Литература

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
2. Dasari A, Shen C, Halperin D, Zhao B, Zhou S, Xu Y, Shih T, Yao JC. Trends in the incidence, prevalence, and survival outcomes in patients with neuroendocrine tumors in the United States. *JAMA Oncol.* 2017;3(10):1335–42. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0589.
3. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. In: World Health Organization classification of tumours. 4<sup>th</sup> edition. Vol. 3. Lyon: IARC Press; 2010. 417 p.
4. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. World Health Organization classification of tumours of endocrine organs. In: World Health Organization classification of tumours. 4<sup>th</sup> edition. Vol. 10. Lyon: IARC Press; 2017. 355 p.
5. Nasir A, Coppola D, editors. Neuroendocrine tumors: review of pathology, molecular and therapeutic advances. New York: Springer-Verlag; 2016. 543 p. doi: 10.1007/978-1-4939-3426-3.
6. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, Klimstra DS. A practical approach to the classification of WHO Grade 3 (G3) well-differentiated neuroendocrine tumor (WD-NET) and poorly differentiat-



- ed neuroendocrine carcinoma (PD-NEC) of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(9):1192–202. doi: 10.1097/PAS.0000000000000662.
7. Konukiewicz B, Schlitter AM, Jesinghaus M, Pfister D, Steiger K, Segler A, Agaimy A, Sipos B, Zamboni G, Weichert W, Esposito I, Pfarr N, Klöppel G. Somatostatin receptor expression related to TP53 and RB1 alterations in pancreatic and extrapancreatic neuroendocrine neoplasms with a Ki67-index above 20. *Mod Pathol.* 2017;30(4):587–98. doi: 10.1038/modpathol.2016.217.
  8. Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, Krasinskas AM, Jang KT, Frankel WL, Balci S, Sigel C, Klimstra DS. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogeneous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):683–90. doi: 10.1097/PAS.0000000000000408.
  9. de Wilde RF, Heaphy CM, Maitra A, Meeker AK, Edil BH, Wolfgang CL, Ellison TA, Schulick RD, Molenaar IQ, Valk GD, Vriens MR, Borel Rinkes IH, Offerhaus GJ, Hruban RH, Matsukuma KE. Loss of ATRX or DAXX expression and concomitant acquisition of the alternative lengthening of telomeres phenotype are late events in a small subset of MEN-1 syndrome pancreatic neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 2012;25(7):1033–9. doi: 10.1038/modpathol.2012.53.
  10. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, La Rosa S, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, De Rosa G, Dogliotti L, Colao A, Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol.* 2007;20(11):1172–82. doi: 10.1038/modpathol.3800954.
  11. Гуревич ЛЕ, Казанцева ИА, Калинин АП, Егоров АВ, Богатырев ОП, Бородастая ЕВ, Бритвин ТА, Лобаков АП, Кубышкин ВА, Кочатков АВ, Майстренко НА, Басос СФ, Евменова ТД. Морфологические критерии злокачественности нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (30-летний опыт). *Анналы хирургии.* 2007;(3):41–6.
  12. Gurevich L, Kazantseva I, Isakov VA, Korsakova N, Egorov A, Kubishkin V, Bulgakov G. The analysis of immunophenotype of gastrin-producing tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Cancer.* 2003;98(9):1967–76. doi: 10.1002/cncr.11739.
  13. Гуревич ЛЕ, Корсакова НА, Воронкова ИА, Ашевская ВЕ, Титов АГ, Когония ЛМ, Егоров АВ, Бритвин ТА, Васильев ИА. Иммуногистохимическое определение экспрессии рецепторов к соматостатину 1, 2А, 3 и 5-го типов в нейроэндокринных опухолях различной локализации и степени злокачественности. *Альманах клинической медицины.* 2016;44(4):378–90. doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390.
  14. O'Toole D, Salazar R, Falconi M, Kaltsas G, Couvelard A, de Herder WW, Hyrdel R, Nikou G, Krenning E, Vullierme MP, Caplin M, Jensen R, Eriksson B; Frascati Consensus Conference; European Neuroendocrine Tumor Society. Rare functioning pancreatic endocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2006;84(3):189–95. doi: 10.1159/000098011.
  15. Kim JY, Kim MS, Kim KS, Song KB, Lee SH, Hwang DW, Kim KP, Kim HJ, Yu E, Kim SC, Jang HJ, Hong SM. Clinicopathologic and prognostic significance of multiple hormone expression in pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):592–601. doi: 10.1097/PAS.0000000000000383.
  16. Brenner B, Shah MA, Gonen M, Klimstra DS, Shia J, Kelsen DP. Small-cell carcinoma of the gastrointestinal tract: a retrospective study of 64 cases. *Br J Cancer.* 2004;90(9):1720–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601758.
  17. Yachida S, Vakiani E, White CM, Zhong Y, Saunders T, Morgan R, de Wilde RF, Maitra A, Hicks J, Demarzo AM, Shi C, Sharma R, Laheru D, Edil BH, Wolfgang CL, Schulick RD, Hruban RH, Tang LH, Klimstra DS, Iacobuzio-Donahue CA. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):173–84. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182417d36.
  18. Bouwens L. Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas. *J Pathol.* 1998;184(3):234–9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199803)184:3<234::AID-PATH28>3.0.CO;2-D.
  19. Teitelman G, Alpert S, Polak JM, Martinez A, Hannah D. Precursor cells of mouse endocrine pancreas coexpress insulin, glucagon and the neuronal proteins tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y, but not pancreatic polypeptide. *Development.* 1993;118(4):1031–9.
  20. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(1):9–15. doi: 10.1097/PAI.0b013e3181ad36ea.
  21. Bellizzi AM. Assigning site of origin in metastatic neuroendocrine neoplasms: a clinically significant application of diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol.* 2013;20(5):285–314. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182a2dc67.
  22. Koo J, Mertens RB, Mirocha JM, Wang HL, Dhall D. Value of Islet 1 and PAX8 in identifying metastatic neuroendocrine tumors of pancreatic origin. *Mod Pathol.* 2012;25(6):893–901. doi: 10.1038/modpathol.2012.34.
  23. Yang Z, Klimstra DS, Hruban RH, Tang LH. Immunohistochemical characterization of the origins of metastatic well-differentiated neuroendocrine tumors to the liver. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(7):915–22. doi: 10.1097/PAS.0000000000000876.
  24. Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M, Schmid S, Soltermann A, Moch H, Heitz PU, Klöppel G, Komminoth P, Perren A. Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(3):420–5. doi: 10.1097/PAS.0b013e318158a397.
  25. Hermann G, Konukiewicz B, Schmitt A, Perren A, Klöppel G. Hormonally defined pancreatic and duodenal neuroendocrine tumors differ in their transcription factor signatures: expression of ISL1, PDX1, NGN3, and CDX2. *Virchows Arch.* 2011;459(2):147–54. doi: 10.1007/s00428-011-1118-6.
  26. Agaimy A, Erlenbach-Wünsch K, Konukiewicz B, Schmitt AM, Rieker RJ, Vieth M, Kiewewetter F, Hartmann A, Zamboni G, Perren A, Klöppel G. ISL1 expression is not restricted to pancreatic well-differentiated neuroendocrine neoplasms, but is also commonly found in well and poorly differentiated neuroendocrine neoplasms of extrapancreatic origin. *Mod Pathol.* 2013;26(7):995–1003. doi: 10.1038/modpathol.2013.40.
  27. Tseng IC, Yeh MM, Yang CY, Jeng YM. NKX6-1 Is a Novel Immunohistochemical Marker for Pancreatic and Duodenal Neuroendocrine Tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(6):850–7. doi: 10.1097/PAS.0000000000000435.
  28. Srivastava A, Padilla O, Fischer-Colbrie R, Tischler AS, Dayal Y. Neuroendocrine secretory protein-55 (NESP-55) expression discriminates pancreatic endocrine tumors and pheochromocytomas from gastrointestinal and pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(10):1371–8.
  29. Ma J, Chen M, Wang J, Xia HH, Zhu S, Liang Y, Gu Q, Qiao L, Dai Y, Zou B, Li Z, Zhang Y, Lan H, Wong BC. Pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX1) functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Carcinogenesis.* 2008;29(7):1327–33. doi: 10.1093/carcin/bgn112.

## References

1. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
2. Dasari A, Shen C, Halperin D, Zhao B, Zhou S, Xu Y, Shih T, Yao JC. Trends in the incidence, prevalence, and survival outcomes in patients with neuroendocrine tumors in the United



- States. *JAMA Oncol.* 2017;3(10):1335–42. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.0589.
3. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 3. Lyon: IARC Press; 2010. 417 p.
4. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. World Health Organization classification of tumours of endocrine organs. In: World Health Organization classification of tumours. 4th edition. Vol. 10. Lyon: IARC Press; 2017. 355 p.
5. Nasir A, Coppola D, editors. Neuroendocrine tumors: review of pathology, molecular and therapeutic advances. New York: Springer-Verlag; 2016. 543 p. doi: 10.1007/978-1-4939-3426-3.
6. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, Klimstra DS. A practical approach to the classification of WHO Grade 3 (G3) well-differentiated neuroendocrine tumor (WD-NET) and poorly differentiated neuroendocrine carcinoma (PD-NEC) of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(9):1192–202. doi: 10.1097/PAS.0000000000000662.
7. Konukiewicz B, Schlitter AM, Jesinghaus M, Pfister D, Steiger K, Segler A, Agaimy A, Sipos B, Zamboni G, Weichert W, Esposito I, Pfarr N, Klöppel G. Somatostatin receptor expression related to TP53 and RB1 alterations in pancreatic and extrapancreatic neuroendocrine neoplasms with a Ki67-index above 20. *Mod Pathol.* 2017;30(4):587–98. doi: 10.1038/modpathol.2016.217.
8. Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, Krasinskas AM, Jang KT, Frankel WL, Balci S, Sigel C, Klimstra DS. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogeneous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):683–90. doi: 10.1097/PAS.0000000000000408.
9. de Wilde RF, Heaphy CM, Maitra A, Meeker AK, Edil BH, Wolfgang CL, Ellison TA, Schulick RD, Molenaar IQ, Valk GD, Vriens MR, Borel Rinkes IH, Offerhaus GJ, Hruban RH, Matsukuma KE. Loss of ATRX or DAXX expression and concomitant acquisition of the alternative lengthening of telomeres phenotype are late events in a small subset of MEN-1 syndrome pancreatic neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 2012;25(7):1033–9. doi: 10.1038/modpathol.2012.53.
10. Volante M, Brizzi MP, Faggiano A, La Rosa S, Rapa I, Ferrero A, Mansueto G, Righi L, Garancini S, Capella C, De Rosa G, Dogliotti L, Colao A, Papotti M. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol.* 2007;20(11):1172–82. doi: 10.1038/modpathol.3800954.
11. Gurevich LE, Kazantseva IA, Kalinin AP, Egorov AV, Bogatyrev OP, Borodataya EV, Britvin TA, Lobakov AP, Kubyshev VA, Kochatkov AV, Maystrenko NA, Basos SF, Evmenova TD. Morphological criteria of malignancy grade in pancreatic neuroendocrine tumors: a 30-years' experience. *Annaly Khirurgii.* 2007;(3):41–6. Russian.
12. Gurevich L, Kazantseva I, Isakov VA, Korsakova N, Egorov A, Kubishkin V, Bulgakov G. The analysis of immunophenotype of gastrin-producing tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Cancer.* 2003;98(9):1967–76. doi: 10.1002/cncr.11739.
13. Gurevich L, Korsakova NA, Voronkova IA, Ashevskaya VE, Titov AG, Kogoniya LM, Egorov AV, Britvin TA, Vasil'ev IA. Immunohistochemical determination of expression of somatostatin receptors types 1, 2A, 3 and 5 in neuroendocrine tumors of various localization and grade. *Almanac of Clinical Medicine.* 2016;44(4):378–90. Russian. doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-378-390.
14. O'Toole D, Salazar R, Falconi M, Kaltsas G, Couvelard A, de Herder WW, Hyrdel R, Nikou G, Krenning E, Vullierme MP, Caplin M, Jensen R, Eriksson B; Frascati Consensus Conference; European Neuroendocrine Tumor Society. Rare functioning pancreatic endocrine tumors. *Neuroendocrinology.* 2006;84(3):189–95. doi: 10.1159/000098011.
15. Kim JY, Kim MS, Kim KS, Song KB, Lee SH, Hwang DW, Kim KP, Kim HJ, Yu E, Kim SC, Jang HJ, Hong SM. Clinicopathologic and prognostic significance of multiple hormone expression in pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(5):592–601. doi: 10.1097/PAS.0000000000000383.
16. Brenner B, Shah MA, Gonen M, Klimstra DS, Shia J, Kelsen DP. Small-cell carcinoma of the gastrointestinal tract: a retrospective study of 64 cases. *Br J Cancer.* 2004;90(9):1720–6. doi: 10.1038/sj.bjc.6601758.
17. Yachida S, Vakiani E, White CM, Zhong Y, Saunders T, Morgan R, de Wilde RF, Maitra A, Hicks J, Demarzo AM, Shi C, Sharma R, Laheru D, Edil BH, Wolfgang CL, Schulick RD, Hruban RH, Tang LH, Klimstra DS, Iacobuzio-Donahue CA. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):173–84. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182417d36.
18. Bouwens L. Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas. *J Pathol.* 1998;184(3):234–9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199803)184:3<234::AID-PATH28>3.0.CO;2-D.
19. Teitelman G, Alpert S, Polak JM, Martinez A, Hanahan D. Precursor cells of mouse endocrine pancreas coexpress insulin, glucagon and the neuronal proteins tyrosine hydroxylase and neuropeptide Y, but not pancreatic polypeptide. *Development.* 1993;118(4):1031–9.
20. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. The use of Cytokeratin 19 (CK19) immunohistochemistry in lesions of the pancreas, gastrointestinal tract, and liver. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2010;18(1):9–15. doi: 10.1097/PAL.0b013e3181ad36ea.
21. Bellizzi AM. Assigning site of origin in metastatic neuroendocrine neoplasms: a clinically significant application of diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol.* 2013;20(5):285–314. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182a2dc67.
22. Koo J, Mertens RB, Mirocha JM, Wang HL, Dhall D. Value of Islet 1 and PAX8 in identifying metastatic neuroendocrine tumors of pancreatic origin. *Mod Pathol.* 2012;25(6):893–901. doi: 10.1038/modpathol.2012.34.
23. Yang Z, Klimstra DS, Hruban RH, Tang LH. Immunohistochemical characterization of the origins of metastatic well-differentiated neuroendocrine tumors to the liver. *Am J Surg Pathol.* 2017;41(7):915–22. doi: 10.1097/PAS.0000000000000876.
24. Schmitt AM, Riniker F, Anlauf M, Schmid S, Soltermann A, Moch H, Heitz PU, Klöppel G, Komminoth P, Perren A. Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(3):420–5. doi: 10.1097/PAS.0b013e318158a397.
25. Hermann G, Konukiewicz B, Schmitt A, Perren A, Klöppel G. Hormonally defined pancreatic and duodenal neuroendocrine tumors differ in their transcription factor signatures: expression of ISL1, PDX1, NGN3, and CDX2. *Virchows Arch.* 2011;459(2):147–54. doi: 10.1007/s00428-011-1118-6.
26. Agaimy A, Erlenbach-Wünsch K, Konukiewicz B, Schmitt AM, Rieker RJ, Vieth M, Kiewewetter F, Hartmann A, Zamboni G, Perren A, Klöppel G. ISL1 expression is not restricted to pancreatic well-differentiated neuroendocrine neoplasms, but is also commonly found in well and poorly differentiated neuroendocrine neoplasms of extrapancreatic origin. *Mod Pathol.* 2013;26(7):995–1003. doi: 10.1038/modpathol.2013.40.
27. Tseng IC, Yeh MM, Yang CY, Jeng YM. NKX6-1 Is a Novel Immunohistochemical Marker for



Pancreatic and Duodenal Neuroendocrine Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(6):850–7. doi: 10.1097/PAS.0000000000000435.

28. Srivastava A, Padilla O, Fischer-Colbrie R, Tischler AS, Dayal Y. Neuroendocrine secre-

tory protein-55 (NESP-55) expression discriminates pancreatic endocrine tumors and pheochromocytomas from gastrointestinal and pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol*. 2004;28(10):1371–8.

29. Ma J, Chen M, Wang J, Xia HH, Zhu S, Liang Y, Gu Q, Qiao L, Dai Y, Zou B, Li Z, Zhang Y, Lan H, Wong BC. Pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX1) functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Carcinogenesis*. 2008;29(7):1327–33. doi: 10.1093/carcin/bgn112.

## Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database

L.E. Gurevich<sup>1</sup> • I.A. Kazantseva<sup>1</sup>

**Aim:** Combined clinical and morphological analysis of the pancreatic neuroendocrine tumor (pNET) spectrum according to the new World Health Organization classification: patient distribution, hormonal status, morphological grading, somatostatin receptor 2 (SSR2) and 5 (SSR5) expression, the choice of tissue-specific markers for the differential diagnosis of primary NET in the pancreas based on metastases with unknown primary tumor. **Materials and methods:** The study was performed with 472 tissue samples from pNETs taken from patients. Morphological analysis consisted of histological and immunohistochemical examination with a panel of antibodies to chromogranin A, synaptophysin, CD56, insulin, glucagon, somatostatin, gastrin, calcitonin, adrenocorticotropic hormone (ACTH), serotonin, pancreatic polypeptide, cytokeratins (CK) of a wide spectrum, CK7 and CK19, p53, Ki-67, SSR 2 and SSR5, PDX-1, Isl-1, and NESP-55. **Results:** In women, the prevalence of pNETs was 2.3 higher than in men (2.3:1). We were able to identify 299 (63.3%) insulinomas, 134 (28.4%) non-functioning NETs, 28 (5.9%) gastrinomas and 1.8% rare tumors (somatostatinomas, "calcitoninomas" and ACTH-producing). Metastatic tumors were found in 16.5% of the cases. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1 was confirmed in 11.9% of the pNET patients, and in 30.8% of those aged below 30 years. Multiple tumors (2 to 10) were found in 32 patients by the time of the diagnosis or occurred at 7 to 18 years after initial surgery. 28.3% of the tumors were CK19-positive, with 54.4% of them being metastatic. Insulinomas were least prone to metastasizing (5.7% of the cases), with 41.2% of them being CK19-positive. Metastases were found in 70.4, 66.7,

100, and 100% of gastrinomas, "calcitoninomas", ACTH-producing, and somatostatinomas, respectively, with CK19-positivity found in 85.2, 66.7, 66.7, and 100% of these tumors. SSR2 expression was observed in all gastrinomas and "calcitoninomas", in 90.5% of "glucagonomas", 85.7% of PPomas, and 66.7% of somatostatinomas. SSR5 expression was significantly less frequent. 86.3% of the studied tumors were PDX-1-positive: all somatostatinomas, 97.4% of insulinomas, 92.3% of gastrinomas, 83.3% of PPomas, 80% of the non-functioning NETs. PDX-1-negativity was identified in all "calcitoninomas" and in 57.1% of the non-functioning "glucagonomas". 83.3% and 90.9% of the pNETs were Isl-1 and NESP-55-positive, respectively. **Conclusion:** Combined morphological and immunohistochemical examination of pNETs allows for the correct diagnosis, assessment of their prognosis and choice of the most effective treatment. The malignancy grade of pNETs depends on the cell immunophenotype and is higher in the cases with co-expression of the markers of neuroendocrine and ductal differentiation (CK19), as well as with ectopic hormonal production.

**Key words:** pancreatic neuroendocrine tumor, malignancy grade, cytokeratin 19, somatostatin receptors, tissue-specific markers

**For citation:** Gurevich LE, Kazantseva IA. Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):298–313. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313.

Received 5 March 2018; accepted 13 June 2018

**Larisa E. Gurevich** – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

✉ 61/2–13 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 74 22. E-mail: larisgur@mail.ru

**Irina A. Kazantseva** – MD, PhD, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

### Conflict of interests

L.E. Gurevich reports that she has read lectures for Ipsen. I.A. Kazantseva reports no conflict of interest relevant to this article.

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Оригинальная статья

# Экспрессия фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование

Делекторская В.В.<sup>1</sup> • Соловьева О.Н.<sup>1</sup> • Чемерис Г.Ю.<sup>1</sup> • Патютко Ю.И.<sup>1</sup>

**Делекторская Вера Владимировна** – д-р мед. наук, заведующая лабораторией гистохимии и электронной микроскопии отдела патологической анатомии опухолей человека<sup>1</sup>

✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 61 11.

E-mail: delektorskaya@yandex.ru

**Соловьева Олеся Николаевна** – аспирант хирургического отделения опухолей печени и поджелудочной железы<sup>1</sup>

**Чемерис Галина Юрьевна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела патологической анатомии опухолей человека<sup>1</sup>

**Патютко Юрий Иванович** – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотр. хирургического отделения опухолей печени и поджелудочной железы<sup>1</sup>

**Актуальность.** Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (НЭО ПЖ) образуют группу редких эпителиальных новообразований с крайне вариабельным клиническим течением. АКТ1 – одна из наиболее часто активируемых протеинкиназ в НЭО ПЖ, способствует усилению опухолевого роста и представляет интерес в качестве фактора прогноза и мишени для поиска новых подходов к лечению. **Цель** – изучить особенности экспрессии фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в первичных НЭО ПЖ и их метастазах в печени и определить корреляцию результатов с основными клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом. **Материал и методы.** Особенности экспрессии p-АКТ1 были изучены с помощью иммуногистохимического анализа в первичных очагах и метастазах в печени 52 больных НЭО ПЖ. **Результаты.** Высокий уровень цитоплазматической и/или ядерной иммунореактивности был выявлен в 24 (46,2%) из 52 первичных НЭО ПЖ и в 16 (59,3%) из 27 метастазов НЭО ПЖ в печени. Экспрессия p-АКТ1 наблюдалась в 3 (21,4%) НЭО G1, в 14 (46,7%) НЭО G2 и в 7 (87,5%) НЭО G3. Экспрессия p-АКТ1 чаще выявлялась в категории НЭО G3 и увеличивалась в процессе опухолевой прогрессии

в метакронных метастазах в печени по сравнению с соответствующей первичной опухолью. Кроме того, p-АКТ1-позитивность была статистически значимо связана с увеличением степени злокачественности от G1 до G3 ( $p=0,004$ ), индекса Ki-67 ( $p=0,029$ ), стадии pTNM ( $p=0,0008$ ), наличием периневральной инвазии ( $p=0,031$ ) и уменьшением безрецидивной выживаемости ( $p=0,05$ ). **Заключение.** Полученные результаты демонстрируют, что p-АКТ1 играет важную роль в патогенезе НЭО ПЖ и может служить дополнительным параметром оценки прогноза и эффективности лечения опухолей данного типа.

**Ключевые слова:** нейроэндокринная опухоль, поджелудочная железа, p-АКТ1, иммуногистохимия, прогноз

**Для цитирования:** Делекторская ВВ, Соловьева ОН, Чемерис ГЮ, Патютко ЮИ. Экспрессия фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):314–22. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-314-322.

Поступила 04.04.2018;

принята к публикации 16.05.2018

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация



**В**ысокодифференцированные нейроэндокринные опухоли (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) образуют гетерогенную группу редких эпителиальных новообразований, для которых характерны общие морфологические характеристики и крайне вариабельное клиническое течение [1, 2]. В последние годы произошел значительный прогресс в понимании биологических особенностей этих опухолей, расширились возможности их лекарственного лечения, в том числе с использованием таргетных препаратов.

Сегодня основным показателем для выбора варианта лечения и оценки риска прогрессии новообразования считается уровень пролиферативной активности опухолевых клеток, который определяет степень злокачественности опухоли и оценивается главным образом с учетом пороговых значений индекса Ki-67. В соответствии с критериями четвертой редакции классификации Всемирной организации здравоохранения, опубликованной в 2017 г. (ВОЗ, 2017), высокодифференцированные нейроэндокринные новообразования ПЖ включают опухоли трех степеней злокачественности (Grade, G): НЭО G1 (индекс Ki-67 < 3%), НЭО G2 (индекс Ki-67 от 3 до 20%), НЭО G3 (индекс Ki-67 > 20%) [3].

Категория НЭО G3 введена в данной классификации впервые и объединяет группу редких опухолей, которые сходны по своим биологическим особенностям с НЭО G1/G2, но имеют худший прогноз, так как демонстрируют высокий уровень пролиферативной активности клеток. Прогрессия индекса Ki-67 часто наблюдается в метастазах НЭО G1/G2 в печени, и его значения во вторичных очагах опухолевого роста могут значительно увеличиваться по сравнению с исходной опухолью, нередко достигая уровня G3. Первичные и метастатические НЭО G3 требуют особых подходов к лечению, поскольку эти опухоли не демонстрируют такого высокоагрессивного клинического течения, как низкодифференцированные варианты нейроэндокринных новообразований (нейроэндокринный рак крупноклеточного и мелкоклеточного типов) [4]. В этой связи большое внимание уделяется изучению молекулярных маркеров, предсказывающих эффективность лекарственной терапии и прогноз НЭО ПЖ различной степени злокачественности. Кроме того, в настоящее время многие исследования сфокусированы на поиске молекул, которые могут служить потенциальными маркерами ответа на разные виды «таргетной» терапии.

Серин/треониновая протеинкиназа АКТ1 (продукт гена *Akt1*) – мультифункциональная киназа. Она выступает ключевым компонентом сигнального каскада mTOR (mammalian target of rapamycin, мишень рапамицина у млекопитающих). Данный сигнальный путь играет определяющую роль в патогенезе НЭО, а ингибиторы mTOR занимают важное место среди возможных вариантов лечения этих опухолей, в частности, ингибитор mTOR эверолимус (everolimus) одобрен для лечения распространенных НЭО ПЖ [5].

АКТ1 входит в семейство протеинкиназ В (РКВ) наряду с еще двумя внутриклеточными белками АКТ2 и АКТ3. В активном состоянии АКТ1 регулирует широкий спектр биологических процессов, включая рост, дифференцировку и выживание клеток. Некоторые исследования демонстрируют, что АКТ1-киназа усиливает процессы клеточной миграции и инвазии путем регуляции активности ряда нижестоящих молекул, в том числе mTOR [6].

Известно, что белок АКТ1 вовлечен в развитие нескольких злокачественных новообразований человека, однако данные о влиянии экспрессии АКТ-1 на биологические характеристики и прогноз течения НЭО ПЖ практически отсутствуют.

Целью исследования было изучение особенностей экспрессии активированной АКТ1-киназы в первичных НЭО ПЖ и их метастазах в печени и определение корреляции полученных результатов с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом заболевания.

## Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ клинических данных и операционного материала 52 больных НЭО ПЖ, прошедших хирургическое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Собранные данные включали первичный диагноз, пол, возраст больного НЭО ПЖ, данные о хирургическом лечении (резекция опухоли ПЖ, первичное и повторное удаление метастазов в печени), локализацию опухоли (отдел ПЖ), первоначальную стадию по критериям AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer / Union for International Cancer Control, 2017).

В исследованную группу больных НЭО ПЖ вошли 23 мужчины и 29 женщин, возраст которых варьировал от 24 до 77 лет (средний возраст на момент диагностики составил 53 года). Диаметр опухолей был от 0,5 до 18 см (средний – 5,2 см). В 14 (26,9%) случаях опухоль локализовалась в головке, в 38 (73,1%) – в хвосте и теле ПЖ. На момент установления диагноза у 33 (63,5%)

пациентов наблюдалась локализованная форма болезни, у 19 (36,5%) больных выявляли регионарное распространение и/или наличие отдаленных метастазов. Клинико-морфологическая характеристика материала дана в табл. 1.

Во всех случаях диагноз НЭО ПЖ верифицирован с помощью гистологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования. Изученный морфологический материал включал 52 первичные НЭО ПЖ и 27 метастатических опухолей (22 синхронных и 5 метахронных метастазов в печени), переоценка которых проведена с учетом критериев последней классификации опухолей эндокринных органов (ВОЗ, 2017) и обновленной системы определения Grade и pTNM-стадии для НЭО ПЖ (AJCC).

Иммуногистохимическое окрашивание выполнено на серийных парафиновых срезах ткани опухолей с использованием антител к цитокератинам широкого спектра (клон AE1/AE3), цитокератину 18, хромогранину А, синаптофизину, CD56, p53, Ki-67 (клон MIB-1, "Dako"), рецепторам к соматостатину 2А типа – SSTR-2А (клон UMB-1, "Epitomics") и системы детекции Super Sensitive Polymer-HRP ("BioGenex").

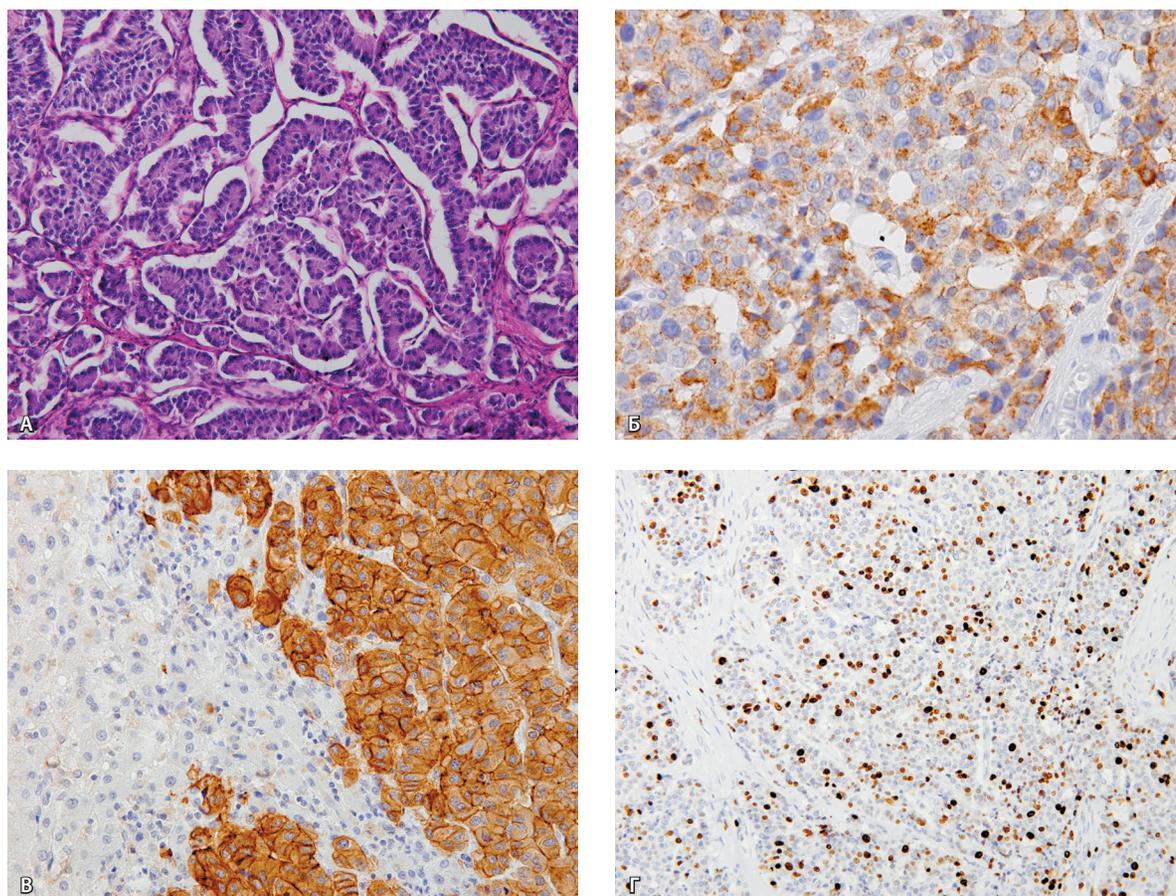
Для ИГХ-анализа экспрессии фосфорилированного варианта АКТ1 (p-AKT1) использовали кроличьи моноклональные антитела к фосфорилированному по остатку серина-473 варианту АКТ1 (phospho Ser473, клон EP2109Y, "Epitomics"). Оценку иммунореактивности проводили с учетом локализации (цитоплазматическое и/или ядерное окрашивание) и интенсивности реакции, а также процента антигенпозитивных клеток. Реакция считалась негативной (0) в отсутствие окрашивания и позитивной (+) при окрашивании более 10% опухолевых клеток. При этом наличие иммунореактивности оценивали от 1+ при слабом окрашивании до 3+ при сильном окрашивании цитоплазмы и/или ядер клеток. Оценка реакции «2+/3+» соответствовала высокому уровню и «0/1+» – низкому уровню экспрессии p-AKT1. Экспрессию маркера оценивали два независимых морфолога с учетом как процента антигенпозитивных клеток, так и интенсивности ядерного и цитоплазматического окрашивания антителами к p-AKT1.

В процессе дальнейшего исследования проводили анализ зависимости ИГХ-статуса p-AKT1 с гистологической степенью злокачественности (Grade), стадией, наличием нейро- и ангиоинвазии, статусом метастазов в лимфатических узлах и печени, индексом пролиферации Ki-67, экспрессией SSTR-2А, а также показателями общей и безрецидивной выживаемости.

**Таблица 1.** Клинико-морфологическая характеристика 52 пациентов с высокодифференцированными нейроэндокринными опухолями поджелудочной железы

Характеристика	n	%
<b>Возраст</b>		
< 60	19	36,5
≥ 60	33	63,5
<b>Пол</b>		
мужчины	23	44,2
женщины	29	55,8
<b>Grade</b>		
G1	14	26,9
G2	30	57,7
G3	8	15,4
<b>Внутрисосудистая инвазия</b>		
нет	27	51,9
да	25	48,1
<b>Перинеуральная инвазия</b>		
нет	26	50
да	26	50
<b>Первичная опухоль (pT)</b>		
T1	5	9,6
T2	11	21,2
T3	35	67,3
T4	1	1,9
<b>Метастазы в лимфоузлах (pN)</b>		
нет	33	63,5
да	19	36,5
<b>Метастазы в печени (M)</b>		
нет	33	63,5
да	19	36,5
<b>Стадия pTNM (AJCC)</b>		
I	3	5,8
IIa	8	15,4
IIb	15	28,8
IIIa	1	1,9
IIIb	5	9,6
IV	19	36,5
<b>Биологический материал</b>		
первичная опухоль	52	100
метастазы в печени	27	51,9

Математический анализ полученных результатов проводился с использованием статистических программ SPSS 17.0 for Windows и Microsoft Office Access 2007. Рассчитывалось среднее значение показателей, стандартная ошибка среднего, медиана. Статистическая значимость различий частот признаков в изучаемых группах определялась с помощью теста Краскела – Уоллиса (различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ ). Анализ актуриальной выживаемости и построение кривых выживаемости проводились



**Рис. 1.** Гистологические и иммуногистохимические особенности нейроэндокринных опухолей (НЭО) поджелудочной железы: **А** – альвеолярная модель строения опухоли (×400); **Б** – экспрессия хромогранина А в клетках НЭО G3 (×600); **Б** – экспрессия SSTR-2A в клетках метастаза НЭО G3 в печени (×600); **Г** – индекс Ki-67 в клетках метастаза НЭО G3 в печени составляет 40% (×200). Окраска гематоксилином и эозином (**А**); иммуногистохимическое исследование, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера (**Б–Г**)

методом Каплана – Мейера. Статистическая значимость различий в выживаемости оценивалась с помощью критерия Вилкоксона и лог-ранк теста. Различия при использовании двух методов считали статистически значимыми при допустимой вероятности ошибки 0,05.

## Результаты

Во всех исследованных случаях высокодифференцированные НЭО ПЖ имели характерную нейроэндокринную морфологию и были представлены мелкими округлыми клетками, образующими солидно-альвеолярные, трабекулярные или ацинарные структуры (рис. 1А). Иммунофенотип клеток опухолей характеризовала экспрессия хромогранина А (рис. 1Б), синаптофизина, CD56, а также различная степень выраженности экспрессии SSTR-2A (рис. 1В) и отсутствие диффузной ядерной экспрессии p53.

Проллиферативная активность клеток НЭО ПЖ варьировала в широких пределах. В большей части изученных опухолей показатели индекса Ki-67 составляли  $\leq 20\%$  и соответствовали НЭО G1 или НЭО G2 (44/52; 84,6%). Однако в 8 (15,4%) наблюдениях НЭО ПЖ демонстрировали высокодифференцированную морфологию, но при этом пролиферативная активность опухолевых клеток превышала пороговый уровень 20%, варьируя от 35 до 55% (рис. 1Г). Данные наблюдения были диагностированы как НЭО G3 и включали не только первичные, но и, в 5 случаях, метастатические опухоли, в которых индекс Ki-67 достиг высоких значений в процессе прогрессии НЭО G1/G2.

Иммуногистохимические особенности экспрессии p-AKT1 изучены в высокодифференцированных НЭО ПЖ различной степени злокачественности, включая НЭО G1, G2, G3, а также их

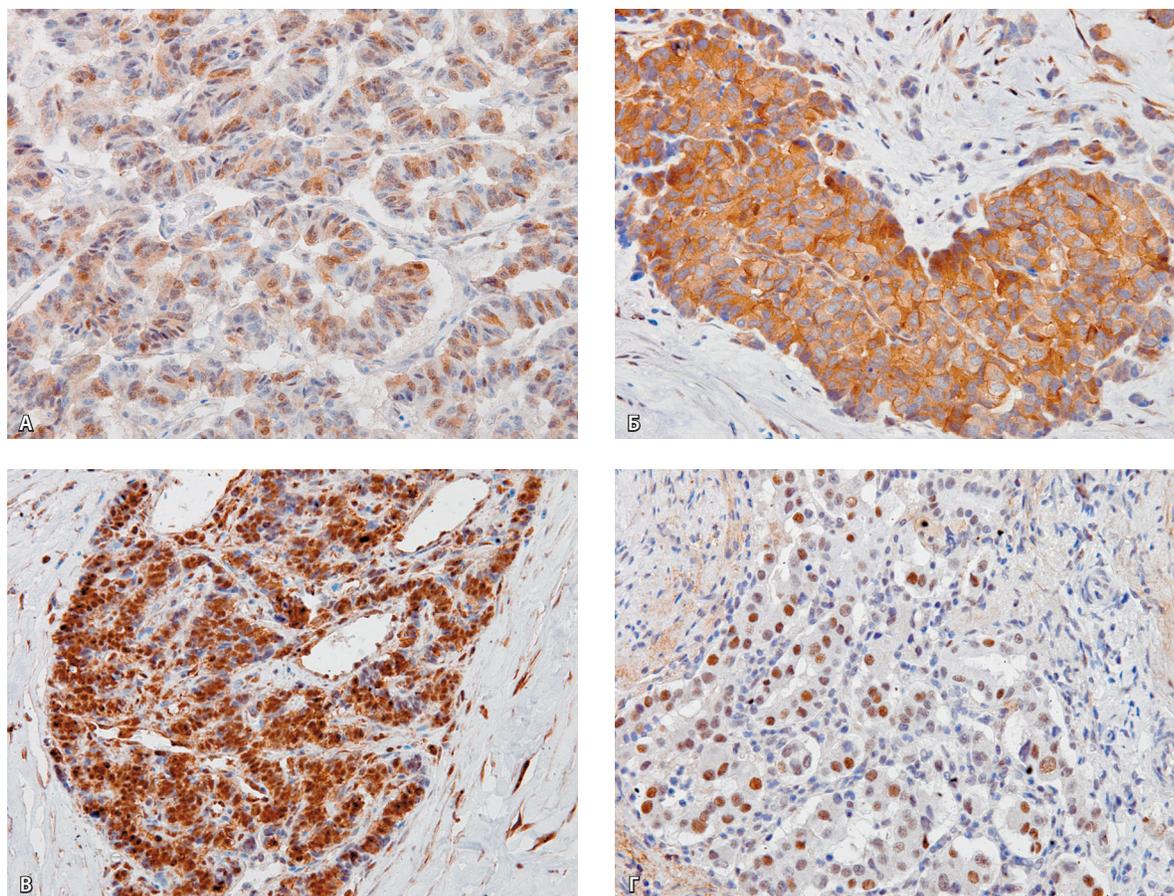
**Таблица 2.** Экспрессия p-AKT1 в первичных и метастатических высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

p-AKT1	Первичные, n (%)	Метастазы, n (%)	G1, n (%)	G2, n (%)	G3, n (%)
Высокий уровень	24 (46,2)	16 (59,3)	3 (21,4)	14 (46,7)	7 (87,5)
Низкий уровень	28 (53,8)	11 (40,7)	11 (78,6)	16 (53,3)	1 (12,5)
Всего	52 (100)	27 (51,9)	14 (26,9)	30 (57,7)	8 (15,4)

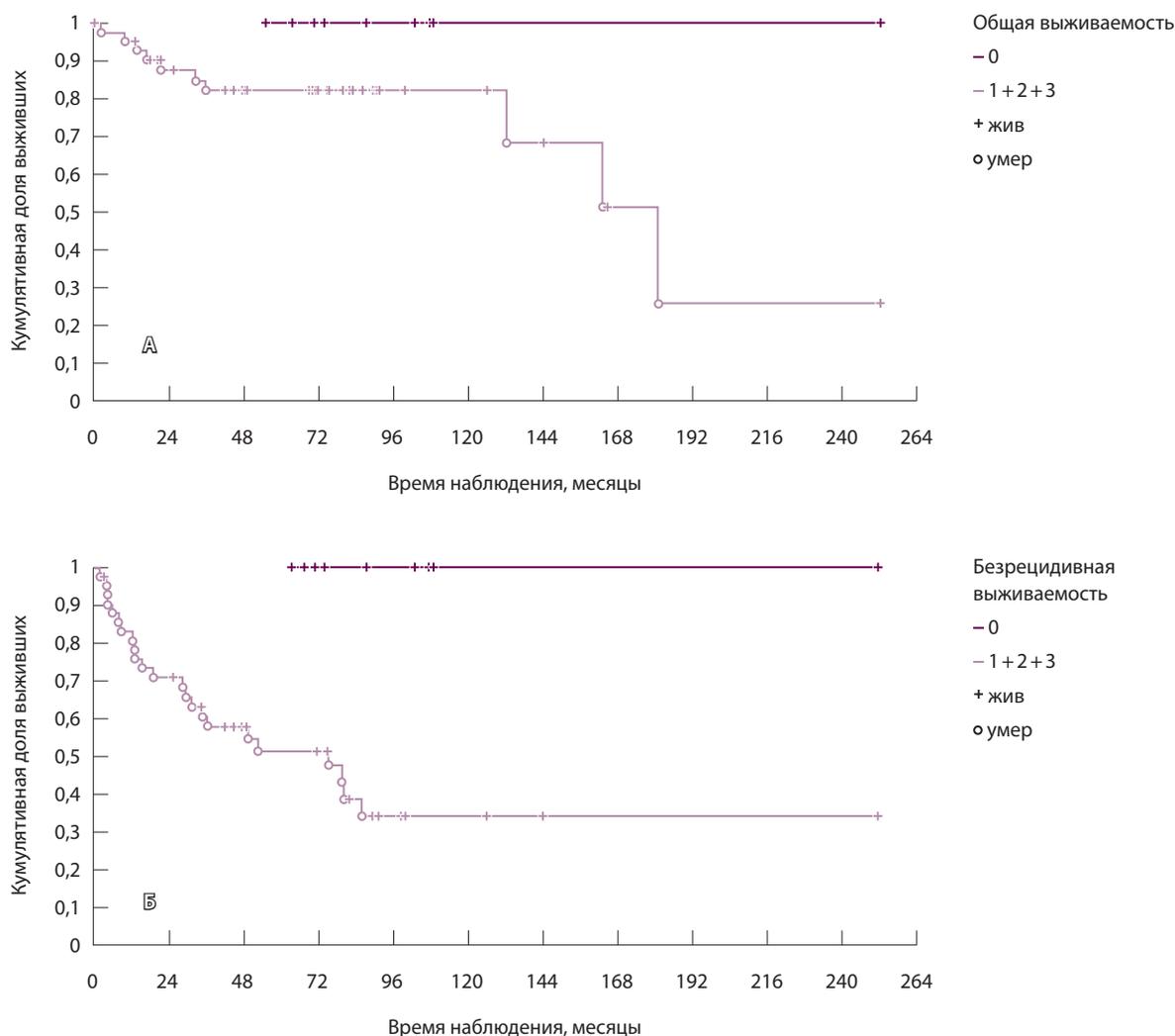
синхронные и метакронные метастазы в печени. Спектр иммунореактивности варьировал от полностью негативного до разного уровня позитивного специфического окрашивания и включал разные типы распределения маркера в виде цитоплазматической, ядерной или ядерно-цитоплазматической экспрессии. Иммунореактивность к p-AKT1 не была ограничена опухолевыми

клетками, а наблюдалась также в нормальной ткани поджелудочной железы: p-AKT1-позитивное окрашивание было обнаружено в ацинарных клетках и не было выявлено в эндокринных клетках островков Лангерганса.

Все опухоли были классифицированы в соответствии с уровнем иммунореактивности как НЭО с высоким (2+/3+) и низким (0/1+) уровнем



**Рис. 2.** Иммуногистохимический статус p-AKT1 в нейроэндокринных опухолях (НЭО) поджелудочной железы: **А** – умеренная цитоплазматическая (2+) экспрессия в клетках НЭО G1; **Б** – сильная цитоплазматическая (3+) экспрессия в клетках НЭО G2; **В** – сильная ядерно-цитоплазматическая (3+) экспрессия в клетках НЭО G3; **Г** – сильная ядерная (3+) экспрессия и отсутствие цитоплазматической реакции в клетках метастаза НЭО G3. Иммуногистохимическое исследование, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера,  $\times 400$



**Рис. 3.** Сравнение общей (А) и безрецидивной (Б) выживаемости (%) в зависимости от статуса p-AKT1 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы (метод Каплана – Мейера);  $p=0,1$  (А);  $p=0,05$  (Б)

экспрессии p-AKT1. Высокий уровень экспрессии p-AKT1 был выявлен в 24 (46,2%) из 52 исследованных первичных НЭО ПЖ и 16 (59,3%) из 27 синхронных и метастатических очагов (табл. 2).

При анализе экспрессии p-AKT1 в опухолях разной степени злокачественности среди 14 наблюдений НЭО G1 обнаружено только 3 (21,4%) антигенпозитивных случая (рис. 2А). В метастазах НЭО G1 в печени экспрессия маркера не выявлена.

При анализе группы НЭО G2 позитивная реакция в виде цитоплазматической (рис. 2Б) и, частично, ядерной экспрессии была обнаружена примерно в половине случаев (14/30, 46,7%). Выраженная ядерно-цитоплазматическая

p-AKT1-позитивность была также выявлена в метастазах НЭО G2 в печени в 7 (46,7%) из 15 случаев. Следует отметить, что в подгруппе p-AKT1-позитивных наблюдений наиболее интенсивное окрашивание часто было видно в клетках, расположенных в инвазивном фронте, по сравнению с клетками, которые находились в центральных участках опухоли. При этом специфическое p-AKT1-окрашивание усиливалось преимущественно в ядрах клеток, а интенсивность цитоплазматического окрашивания не изменялась.

Значительное увеличение экспрессии p-AKT1 наблюдалось в серии случаев НЭО G3 с индексом Ki-67, превышающим 20% (рис. 2В). Высокий уровень маркера был выявлен как в первичных опухолях (7/8; 87,5%), так и в их синхронных

и метакронных метастазах в печени (9/12; 75%). При этом иммунореактивность имела преимущественно ядерную локализацию, а интенсивность цитоплазматического окрашивания значительно уменьшалась (рис. 2Г). Следует отметить, что гиперэкспрессия p-AKT1 с увеличенной ядерной локализацией и уменьшением цитоплазматического окрашивания наблюдалась наиболее часто в НЭО G3 по сравнению с НЭО G1/G2.

В случаях метастатических НЭО ПЖ выполнен парный анализ первичных опухолей и соответствующих синхронных и/или метакронных метастазов в печени. Не было обнаружено статистически значимых различий в уровне экспрессии p-AKT1 в клетках первичных опухолей и синхронных метастазов. Метакронные метастазы в печени, в которых наблюдалась прогрессия индекса Ki-67 с течением времени, часто демонстрировали увеличение уровня ядерной экспрессии p-AKT1 и процента антигенпозитивных клеток по сравнению с соответствующими первичными опухолями.

При оценке связи клинических характеристик больных НЭО ПЖ с наличием p-AKT1-позитивности в опухоли обнаружена статистически значимая корреляция высокого уровня экспрессии маркера и увеличения степени злокачественности НЭО ПЖ от G1 до G3 ( $p=0,004$ ). Кроме того, выявлена значимая ассоциация между высоким уровнем экспрессии p-AKT1 и увеличением пролиферативной активности клеток опухоли с учетом индекса Ki-67 ( $p=0,029$ ), стадии pTNM ( $p=0,0008$ ), наличием периневральной инвазии ( $p=0,031$ ). Не было обнаружено статистически значимых различий при сравнении экспрессии маркера с полом и возрастом пациентов, размером опухоли, наличием ангиоинвазии, регионарных и отдаленных метастазов и статусом SSTR-2A в опухоли.

Анализ прогностической значимости маркера проведен с учетом высокого (2+/3+) и низкого (0/1+) уровня экспрессии p-AKT1 в опухоли, при этом общая 5-летняя выживаемость в группах с высокой и низкой экспрессией составила 84 и 86% соответственно ( $p=0,54$ ), а 5-летняя безрецидивная выживаемость – 76 и 41% соответственно ( $p=0,21$ ). С учетом ошибки разница была статистически незначимой в обеих группах.

При сравнении выживаемости в группах с полным отсутствием экспрессии (0) и наличием экспрессии p-AKT1 любого уровня (1+, 2+, 3+) общая 5-летняя выживаемость также не продемонстрировала статистически значимых различий и составила в негативной группе 100%, в позитивной – 82% ( $p=0,103$ ) (рис. 3А). Однако

безрецидивная 5-летняя выживаемость статистически значимо различалась в зависимости от наличия или отсутствия маркера и составила в группах пациентов, опухоли которых были p-AKT1-негативны, 100%, а p-AKT1-позитивны – 54% (метод Каплана – Мейера,  $p=0,05$ ) (рис. 3Б).

Таким образом, показано, что наличие p-AKT1-позитивности в опухоли было связано с уменьшением показателей безрецидивной выживаемости с пограничным уровнем статистической значимости и не демонстрировало статистически значимой связи с показателями общей выживаемости.

## Обсуждение

Высокодифференцированные НЭО ПЖ характеризуются различной степенью злокачественности, непредсказуемым клиническим течением и высоким риском развития метастазов в печени. Параметры оценки прогноза и особенностей лекарственного лечения НЭО ПЖ требуют дальнейшей разработки.

Накопленные данные свидетельствуют, что белок AKT1 – важная сигнальная молекула, способствующая развитию и прогрессии целого ряда опухолей человека, включая рак молочной железы, желудка, легкого и другие опухоли [7–14].

Показано, что в НЭО ПЖ AKT1 – одна из наиболее часто активируемых протеинкиназ и связана с ускорением опухолевого роста и агрессивностью течения заболевания [15]. Результаты нашего исследования подтверждают эти данные, демонстрируя экспрессию p-AKT1 в различных группах больных НЭО ПЖ. При этом высокий уровень экспрессии маркера выявлен в 3 из 14 (21,4%), 14 из 30 (46,7%) и 7 из 8 (87,5%) случаев НЭО ПЖ G1, G2 и G3 соответственно. Самый высокий уровень и ядерная локализация иммунореактивности выявлены в категории НЭО G3, которые составляют наиболее прогностически неблагоприятную группу. Кроме того, экспрессия маркера часто увеличивалась в клетках инвазивного фронта первичной опухоли. Экспрессия p-AKT1 выявлена также в синхронных и метакронных метастазах НЭО ПЖ в печени, при этом высокий уровень экспрессии маркера наблюдался в 7 из 15 (46,7%) и 9 из 12 (75%) метастазов в печени НЭО ПЖ G2 и G3 соответственно. Следует отметить, что экспрессия p-AKT1 увеличивалась в процессе опухолевой прогрессии в метакронных метастазах в печени по сравнению с соответствующей первичной опухолью.

Как установлено рядом исследований, в НЭО бронхопульмональной системы гиперэкспрессия



фосфорилированного варианта АКТ1 усиливает клеточную пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток, а также связана с плохой общей выживаемостью [16, 17]. В опухолях больших НЭО ПЖ, по нашим данным, наблюдается схожая тенденция, при этом наличие ядерной и/или цитоплазматической экспрессии p-AKT1 связано с увеличением степени злокачественности ( $p=0,004$ ), индекса Ki-67 ( $p=0,029$ ), стадии pTNM ( $p=0,0008$ ), наличием периневральной инвазии ( $p=0,031$ ) и уменьшением безрецидивной выживаемости ( $p=0,05$ ). Экспрессия маркера не демонстрировала значимой связи с показателями общей выживаемости, а также наличием регионарных и/или отдаленных метастазов, что может быть обусловлено недостаточно большим количеством наблюдений, включенных в настоящее исследование.

В нескольких работах показано, что протеинкиназа АКТ1 является важной мишенью для поиска новых подходов к лечению НЭО и потенциальным предиктивным маркером ответа на терапию ингибиторами mTOR [18, 19]. Результаты проведенного нами исследования демонстрируют наличие выраженной иммунореактивности в клетках опухоли, при этом

иммуногистохимическая экспрессия активированного варианта АКТ1 часто наблюдается не только в первичных, но и в метастатических НЭО ПЖ и связана с агрессивным течением и плохим прогнозом заболевания. Полученные данные служат основанием для дальнейшего изучения потенциальных возможностей применения терапии с использованием ингибиторов сигнального пути АКТ/mTOR для лечения пациентов с НЭО ПЖ.

### Заключение

Таким образом, p-AKT1 можно рассматривать как важный фактор патогенеза НЭО ПЖ, экспрессия которого в опухоли ассоциирована с большей клинической агрессивностью, увеличением гистологической степени злокачественности и уменьшением безрецидивной выживаемости. Связь экспрессии p-AKT1 с факторами риска прогрессии НЭО ПЖ позволяет предположить потенциальную значимость данного компонента сигнального пути mTOR как дополнительного параметра оценки прогноза и эффективности лечения опухоли, а также мишени для молекулярно-направленной терапии данной категории больных. ©

#### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

### Литература / References

- Ohmoto A, Rokutan H, Yachida S. Pancreatic neuroendocrine neoplasms: basic biology, current treatment strategies and prospects for the future. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1). pii: E143. doi: 10.3390/ijms18010143.
- Simtniece Z, Vanags A, Strumfa I, Sperga M, Vasko E, Prieditis P, Trapencieris P, Gardovskis J. Morphological and immunohistochemical profile of pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Pol J Pathol*. 2015;66(2):176–94. doi: 10.5114/pjp.2015.53015.
- Klöppel G, Couvelard A, Hruban R, Klimstra D, Komminoth P, Osamura R. Neoplasms of the neuroendocrine pancreas. Introduction. In: Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. *WHO classification of tumours of endocrine organs*. Lyon: IARC; 2017. p. 211–4.
- Rinke A, Gress TM. Neuroendocrine cancer, therapeutic strategies in G3 cancers. *Digestion*. 2017;95(2):109–14. doi: 10.1159/000454761.
- Robbins HL, Hague A. The PI3K/Akt Pathway in Tumors of Endocrine Tissues. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;6:188. doi: 10.3389/fendo.2015.00188.
- Ocana A, Vera-Badillo F, Al-Mubarak M, Templeton AJ, Corrales-Sanchez V, Diez-Gonzalez L, Cuenca-Lopez MD, Seruga B, Pandiella A, Amir E. Activation of the PI3K/mTOR/AKT pathway and survival in solid tumors: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(4):e95219. doi: 10.1371/journal.pone.0095219.
- Kirkegaard T, Witton CJ, McGlynn LM, Tovey SM, Dunne B, Lyon A, Bartlett JM. AKT activation predicts outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *J Pathol*. 2005;207(2):139–46. doi: 10.1002/path.1829.
- Xiao L, Wang YC, Li WS, Du Y. The role of mTOR and phospho-p70S6K in pathogenesis and progression of gastric carcinomas: an immunohistochemical study on tissue microarray. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009;28:152. doi: 10.1186/1756-9966-28-152.
- Yu G, Wang J, Chen Y, Wang X, Pan J, Li G, Jia Z, Li Q, Yao JC, Xie K. Overexpression of phosphorylated mammalian target of rapamycin predicts lymph node metastasis and prognosis of Chinese patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(5):1821–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2138.
- Oh MH, Lee HJ, Yoo SB, Xu X, Choi JS, Kim YH, Lee SY, Lee CT, Jheon S, Chung JH. Clinicopathological correlations of mTOR and pAkt expression in non-small cell lung cancer. *Virchows Arch*. 2012;460(6):601–9. doi: 10.1007/s00428-012-1239-6.
- Trigka EA, Levidou G, Saetta AA, Chatziandreu I, Tomos P, Thalassinou N, Anastasiou N, Spartalis E, Kavantzis N, Patsouris E, Korkolopoulou P. A detailed immunohistochemical analysis of the PI3K/AKT/mTOR pathway in lung cancer: correlation with PIK3CA, AKT1, K-RAS or PTEN mutational status and clinicopathological features. *Oncol Rep*. 2013;30(2):623–36. doi: 10.3892/or.2013.2512.
- Yu Z, Weinberger PM, Sasaki C, Egleston BL, Speier WF 4<sup>th</sup>, Haffty B, Kowalski D, Camp R, Rimm D, Vairaktaris E, Burtness B, Psyrris A. Phosphorylation of Akt (Ser473) predicts poor clinical outcome in oropharyngeal squamous cell cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(3):553–8. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0121.
- Wu N, Du Z, Zhu Y, Song Y, Pang L, Chen Z. The expression and prognostic impact of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Technol Cancer Res Treat*. 2018;17:1533033818758772. doi: 10.1177/1533033818758772.
- Yeung Y, Lau DK, Chionh F, Tran H, Tse JWT, Weickhardt AJ, Nikfarjam M, Scott AM, Tebbutt NC, Mariadason JM. K-Ras mutation and amplification status is predictive of resistance and high basal pAKT is predictive of sensitivity to everolimus in biliary tract cancer cell lines. *Mol Oncol*. 2017;11(9):1130–42. doi: 10.1002/1878-0261.12078.



15. Komori Y, Yada K, Ohta M, Uchida H, Iwashita Y, Fukuzawa K, Kashima K, Yokoyama S, Inomata M, Kitano S. Mammalian target of rapamycin signaling activation patterns in pancreatic neuroendocrine tumors. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2014;21(4):288–95. doi: 10.1002/jhbp.26.
16. Ali G, Boldrini L, Capodanno A, Pelliccioni S, Servadio A, Crisman G, Picchi A, Davini F, Mussi A, Fontanini G. Expression of p-AKT and p-mTOR in a large series of bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Exp Ther Med.* 2011;2(5):787–92. doi: 10.3892/etm.2011.291.
17. Gagliano T, Bellio M, Gentilin E, Molè D, Tagliati F, Schiavon M, Cavallesco NG, Andriolo LG, Ambrosio MR, Rea F, Degli Uberti E, Zatelli MC. mTOR, p70S6K, AKT, and ERK1/2 levels predict sensitivity to mTOR and PI3K/mTOR inhibitors in human bronchial carcinoids. *Endocr Relat Cancer.* 2013;20(4):463–75. doi: 10.1530/ERC-13-0042.
18. Falletta S, Partelli S, Rubini C, Nann D, Doria A, Marinoni I, Polenta V, Di Pasquale C, Degli Uberti E, Perren A, Falconi M, Zatelli MC. mTOR inhibitors response and mTOR pathway in pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer.* 2016;23(11):883–91. doi: 10.1530/ERC-16-0329.
19. Pellat A, Dreyer C, Couffignal C, Walter T, Lombard-Bohas C, Niccoli P, Seitz JF, Hentic O, André T, Coriat R, Faivre S, Zappa M, Ruzsniowski P, Pote N, Couvelard A, Raymond E. Clinical and biomarker evaluations of sunitinib in patients with grade 3 digestive neuroendocrine neoplasms. *Neuroendocrinology.* 2018;107(1):24–31. doi: 10.1159/000487237.

## Expression of the phosphorylated variant of the AKT1-kinase (p-AKT1) in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: immunohistochemical evaluation

V.V. Delektorskaya<sup>1</sup> • O.N. Solov'eva<sup>1</sup> • G.Yu. Chemeris<sup>1</sup> • Yu.I. Patyutko<sup>1</sup>

**Background:** Well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors (pNETs) represent a group of rare epithelial neoplasms with a highly variable clinical course. AKT1 is one of the most frequently activated protein kinases in pNETs, which promotes the tumor growth and is of interest as a prognostic factor and a target for new treatment approaches. **Aim:** To study the expression of the phosphorylated variant of AKT1-kinase (p-AKT1) in primary pNETs and their liver metastases and to correlate the results with various clinical and pathological parameters and the disease prognosis. **Materials and methods:** P-AKT1 expression was studied by the immunohistochemical analysis of the primary lesions and liver metastases in 52 pNETs patients. **Results:** A high level of cytoplasmic and/or nuclear immunoreactivity was detected in 24/52 of the primary pNETs (46.2%) and in 16/27 of their liver metastases (59.3%). p-AKT1 expression was observed in 3 (21.4%) of NET grade (G) 1, in 14 (46.7%) of NET G2, and in 7 (87.5%) of NET G3. p-AKT1 expression was more frequently identified in pNET G3 category and increased during the tumor progression in metachronous

liver metastases, as compared to the corresponding primary tumor. In addition, p-AKT1 positivity was significantly associated with an increase of grade from G1 to G3 ( $p=0.004$ ), the Ki-67 index ( $p=0.029$ ), the pTNM stage ( $p=0.0008$ ), perineural invasion ( $p=0.031$ ) and a decrease in disease-free survival ( $p=0.05$ ). **Conclusion:** The results suggest that p-AKT1 plays an important role in the pathogenesis of pNETs and may be an additional criterion for assessment of the prognosis and treatment effectiveness in this type of tumors.

**Key words:** neuroendocrine tumor, pancreas, p-AKT1, immunohistochemistry, prognosis

**For citation:** Delektorskaya VV, Solov'eva ON, Chemeris GYu, Patyutko YuI. Expression of the phosphorylated variant of the AKT1-kinase (p-AKT1) in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: immunohistochemical evaluation. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(4):314–22. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-314-322.

Received 4 April 2018; accepted 16 May 2018

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.

**Vera V. Delektorskaya** – MD, PhD, Head of Histochemistry and Electron Microscopy Laboratory, Department of Pathology of Human Tumors<sup>1</sup>  
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 61 11.  
E-mail: delektorskaya@yandex.ru

**Olesya N. Solov'eva** – MD, Postgraduate Student, Department of Liver and Pancreatic Tumors<sup>1</sup>

**Galina Yu. Chemeris** – PhD (in Biology), Senior Research Fellow, Department of Pathology of Human Tumors<sup>1</sup>

**Yuri I. Patyutko** – MD, PhD, Professor, Chief Research Fellow, Department of Liver and Pancreatic Tumors<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation



Оригинальная статья

# Иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора 2-го типа в опухолях больных раком желудка: клиничко-морфологические корреляции

Герштейн Е.С.<sup>1</sup> • Иванников А.А.<sup>2</sup> • Чанг В.Л.<sup>2</sup> • Огнерубов Н.А.<sup>2</sup> • Давыдов М.М.<sup>1</sup> • Стилиди И.С.<sup>1</sup> • Кушлинский Н.Е.<sup>1</sup>

**Актуальность.** В последние 10 лет заболеваемость раком желудка значительно снизилась. Тем не менее это все еще одно из самых распространенных злокачественных новообразований в России и в мире, и проблемы ранней диагностики, прогноза и индивидуализации тактики лечения по-прежнему актуальны. Большое внимание уделяется изучению молекулярно-биологических особенностей опухоли, а также созданию на их основе многофакторных систем прогноза рака желудка. Среди потенциальных биологических маркеров опухолей важное место занимают матриксные металлопротеиназы (ММП), вовлеченные во все этапы опухолевого процесса, в первую очередь в регуляцию инвазии и метастазирования. **Цель** – сравнительная количественная оценка содержания некоторых представителей семейства ММП (ММП-2, 7 и 9) и одного из их тканевых ингибиторов (ТИМП-2) в опухолях и окружающей гистологически неизменной ткани больных раком желудка; анализ взаимосвязи этих показателей с основными клиничко-морфологическими особенностями и прогнозом заболевания. **Материал и методы.** В исследование включены 66 первичных больных раком желудка (32 мужчины и 34 женщины) в возрасте от 24 до 82 лет (медиана 61 год). Стадия I диагностирована у 22, II – у 11, III – у 28, IV – у 5 пациентов. Содержание исследуемых белков определяли в экстрактах опухолей и участков гистологически неизменной слизистой оболочки желудка с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа (Quantikine®,

R&D Systems, США). **Результаты и обсуждение.** Содержание ММП-2, 7 и 9 в опухолях статистически значимо повышено по сравнению с окружающей гистологически неизменной слизистой оболочкой у 80, 70 и 72% больных раком желудка, а увеличение уровня ТИМП-2, наблюдаемое в 61% опухолей, не достигает уровня статистической значимости. Содержание ММП-2 и ТИМП-2 в опухоли статистически значимо возрастает с увеличением индекса T – размера и распространенности первичной опухоли ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). Уровень ММП-2 в опухолевой ткани также возрастает с увеличением индекса N (вовлеченности регионарных лимфатических узлов;  $p < 0,01$ ) и выше у больных с отдаленными метастазами, чем у пациентов без метастазов ( $p < 0,05$ ). Содержание ММП-9 и ММП-7 в ткани рака желудка не зависит от показателей распространенности процесса. Пациенты прослежены на протяжении от 1 до 85 месяцев (медиана 18,3 месяца). По данным однофакторного анализа, высокое (более 32,6 нг/мг белка) содержание ММП-2 и низкое (менее 1,1 нг/мг белка) содержание ММП-7 в ткани рака желудка – статистически значимые факторы неблагоприятного прогноза общей выживаемости. Повышенный уровень ТИМП-2 незначительно ухудшает прогноз общей выживаемости ( $p > 0,05$ ), а уровень ММП-9 на него не влияет. По данным многофакторного регрессионного анализа, независимыми факторами прогноза оказались только индекс T ( $p = 0,0034$ ) и уровень ММП-7 в опухолевой ткани ( $p = 0,026$ ). **Заключение.** У большинства обследованных

больных раком желудка выявлено статистически значимое увеличение уровня экспрессии трех представителей семейства ММП – желатиназ (ММП-2 и ММП-9) и матрилизина (ММП-7) в опухолях по сравнению с окружающей гистологически неизменной тканью. При этом только уровень ММП-2 связан с распространенностью процесса, возрастая с увеличением индексов системы TNM. Высокое содержание ММП-2 и низкое – ММП-7 в ткани рака желудка являются статистически значимыми факторами неблагоприятного прогноза общей выживаемости пациентов по данным однофакторного анализа, но только уровень ММП-7 сохраняет независимое прогностическое значение по данным многофакторного анализа.

**Ключевые слова:** матриксная металлопротеиназа 2, матриксная металлопротеиназа 9, тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ 2-го типа, рак желудка, ELISA

**Для цитирования:** Герштейн ЕС, Иванников АА, Чанг ВЛ, Огнерубов НА, Давыдов ММ, Стилиди ИС, Кушлинский НЕ. Иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора 2-го типа в опухолях больных раком желудка: клиничко-морфологические корреляции. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):323–9. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-323-329.

Поступила 22.03.2018;  
принята к публикации 22.05.2018



**Р**ак желудка, несмотря на значительное снижение заболеваемости в последние 10 лет, остается одним из самых распространенных злокачественных новообразований в России и в мире, поэтому проблемы ранней диагностики, прогноза и индивидуализации тактики лечения этого тяжелого заболевания не теряют актуальности. Поскольку возможности совершенствования тактики и объема хирургического вмешательства не беспредельны, а эффективность классической химиотерапии при раке желудка весьма ограничена, надежды на дальнейший прогресс в улучшении лечения этого заболевания связаны не только с более эффективным использованием комбинированных и комплексных методов лечения, но и с разработкой принципиально новых патогенетических методов терапии, основанных на современных достижениях в изучении биохимии и молекулярной биологии опухолей.

Все больше внимания уделяется исследованию биологических свойств опухоли и созданию многофакторных систем прогноза при раке желудка [1], так как «классические» морфологические критерии прогноза не могут полностью объяснить все разнообразие биологических свойств опухоли и не всегда достаточно правильно предсказывают ее течение.

Одним из фундаментальных свойств злокачественных опухолей является способность к инвазии в окружающие ткани и метастазированию в отдаленные органы. Главное место в этих процессах отводится разрушению окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса ассоциированными с опухолью протеазами. В связи с этим матриксные металлопротеиназы (ММП) – мультигенное семейство, состоящее из более 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинкзависимых эндопептидаз, участвующих в деградации практически всех компонентов внеклеточного матрикса, – уже на протяжении многих лет рассматриваются и изучаются в качестве потенциальных биологических маркеров различных опухолей [2]. К важнейшим представителям ММП относят различные коллагеназы (ММП-1, ММП-8 и др.), желатиназы А и В (ММП-2 и ММП-9 соответственно), матрилизин (ММП-7), стромелизины (ММП-3 и ММП-10). Помимо большинства компонентов внеклеточного матрикса субстратами ММП могут быть другие протеазы, хемотаксические молекулы, латентные формы факторов роста, растворимые и мембранно-ассоциированные белки, связывающие факторы роста.

**Герштейн Елена Сергеевна** – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии<sup>1</sup>  
✉ 115478, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 324 11 59.  
E-mail: biochimia@yandex.ru

**Иванников Андрей Андреевич** – хирург-онколог, ассистент кафедры анатомии, оперативной хирургии и онкологии<sup>2</sup>

**Чанг Виктор Луисович** – ассистент кафедры анатомии, оперативной хирургии и онкологии<sup>2</sup>

**Огнерубов Николай Алексеевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой анатомии, оперативной хирургии и онкологии<sup>2</sup>

**Давыдов Михаил Михайлович** – д-р мед. наук, чл.-корр. РАН, зав. отделением торакальной онкологии<sup>1</sup>

**Стилиди Иван Сократович** – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. хирургическим отделением абдоминальной онкологии, директор<sup>1</sup>

**Кушлинский Николай Евгеньевич** – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. лабораторией клинической биохимии<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина»; 392000, г. Тамбов, ул. Интернациональная, 33, Российская Федерация

ММП вовлечены во все этапы опухолевого процесса, но особенно велико их значение в регуляции инвазии и метастазирования. Они участвуют и в регуляции опухолевого ангиогенеза как посредством комплексного взаимодействия с VEGF и его рецепторами, так и независимо от этой ключевой проангиогенной системы [3].

Активность ММП в межклеточном пространстве специфически подавляется тканевыми ингибиторами (ТИМП) – структурно родственными белками, три из которых (ТИМП-1, 2 и 4) секретируются в растворимой форме, а один (ТИМП-3) связан с внеклеточным матриксом [4]. ТИМП, в первую очередь ТИМП-1 и 2, играют важную самостоятельную роль в регуляции роста и дифференцировки опухолевых и нормальных клеток, в том числе участвуя в регуляции ангиогенеза [5].

Увеличение экспрессии ММП обнаружено в опухолях различного генеза, при этом активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы [6]. Тканевая экспрессия, а в некоторых случаях и сывороточные уровни отдельных ММП и ТИМП, имеют прогностическое и/или диагностическое значение при таких заболеваниях, как рак яичников, колоректальный рак, рак почки и др. [2]. В последние годы появились обобщающие публикации о роли тканевой экспрессии некоторых ММП при раке желудка [7–11]. В большинстве таких исследований либо проводили иммуногистохимическое окрашивание соответствующих белков, либо оценивали экспрессию мРНК методами полимеразной цепной реакции.

Цель данного исследования – сравнительная количественная оценка содержания некоторых представителей семейства ММП (ММП-2, 7 и 9) и одного из их тканевых ингибиторов (ТИМП-2) в опухолях и окружающей гистологически неизменной ткани больных раком желудка, анализ взаимосвязи этих показателей с основными клинико-морфологическими особенностями и прогнозом заболевания.

## Материал и методы

В исследование включены 66 первичных больных раком желудка (32 мужчины и 34 женщины) в возрасте от 24 до 82 лет (медиана 61 год), прошедших обследование и лечение в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН в 2010–2011 гг. Диагноз рака желудка у всех включенных в исследование пациентов подтвержден данными планового



гистологического исследования. Дизайн работы соответствует требованиям этического комитета ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Стадия I диагностирована у 22, II – у 11, III – у 28, IV – у 5 пациентов. У 27% пациентов опухоль локализовалась в теле, у 21% – в проксимальном, у 22% – в антральном отделе желудка. Кроме того, у 13% больных были одновременно поражены тело и проксимальный отдел желудка, еще у 13% – тело и антральный отдел. Тотальное поражение было констатировано у 4% больных.

Образцы опухолевой и гистологически неизменной ткани желудка (200–300 мг) брали во время операции и немедленно замораживали для дальнейшего хранения при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Содержание исследуемых белков определяли в экстрактах опухолей и участков гистологически неизменной слизистой оболочки желудка с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа: Human/Mouse/Rat MMP-2 (total), Human MMP-7 (total), Human MMP-9 (total) и Human TIMP-2 (Quantikine®, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Для проведения иммуноферментного анализа опухолевых и неизменных тканей желудка получали их экстракты как описано ранее [12]. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшета EL<sub>x</sub>800 (Bio-Tek Instruments, Inc., США). Концентрацию маркеров выражали в нанogramмах на 1 мг общего белка (нг/мг белка), определенного в экстрактах тканей по методу Лоури.

При сравнении и анализе взаимосвязи показателей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса, Вилкоксона, тест корреляции рангов Спирмена (R). Выживаемость больных оценивали методом Каплана – Мейера, а также с помощью регрессионной многофакторной модели Кокса. Данные обрабатывали с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc).

## Результаты и обсуждение

Содержание всех исследованных MMP было статистически значимо повышено по сравнению с гистологически неизменной тканью в опухолях 80 (MMP-2), 70 (MMP-7) и 72% (MMP-9) больных раком желудка (табл. 1). У 61% больных отмечено также увеличение содержания TIMP-2, однако медианы этого показателя в опухоли и неизменной слизистой желудка (18,8 и 16,7 нг/мг белка), в отличие от исследованных MMP, значительно не различались (см. табл. 1).

**Таблица 1.** Содержание (нг/мг белка) MMP-2, 7, 9 и TIMP-2 в опухолях и гистологически неизменной слизистой оболочке больных раком желудка

Показатель	Опухоль (T)		Слизистая оболочка (N)		T > N, %
	медиана	диапазон	медиана	диапазон	
MMP-2	32,6*	4,4–127	15,9	4–249	80
MMP-7	1,1*	0–16,6	0	0–4,1	70
MMP-9	150*	0–2000	77,9	0–563	72
TIMP-2	18,8	0–100	16,7	5,4–56,3	61

MMP – матриксная металлопротеиназа, TIMP – тканевый ингибитор матриксной металлопротеиназы

\* $p < 0,0001$ ,  $^{\dagger}p < 0,01$  по сравнению с неизменной слизистой (парный критерий Вилкоксона)

Слабая, но статистически значимая положительная корреляционная связь показателей опухолевой и гистологически неизменной ткани выявлена для трех маркеров: MMP-7 ( $R = 0,39$ ;  $p = 0,0012$ ), MMP-9 ( $R = 0,38$ ;  $p = 0,0024$ ) и TIMP-2 ( $R = 0,35$ ;  $p = 0,028$ ). Кроме того, уровни MMP-2 и TIMP-2 положительно коррелировали между собой как в опухолевой ( $R = 0,58$ ;  $p < 0,0001$ ), так и в неизменной слизистой желудка ( $R = 0,59$ ;  $p < 0,0001$ ).

Для того чтобы оценить клиническое значение определения исследуемых маркеров в ткани рака желудка, мы проанализировали взаимосвязь их уровней с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания: локализацией, типом роста и гистологическим строением первичной опухоли, ее размером и распространенностью (T), степенью поражения регионарных лимфатических узлов (N), наличием отдаленных метастазов (M). Значимых ассоциаций с гистологическим строением, степенью дифференцировки, локализацией, типом роста первичной опухоли не выявлено.

В табл. 2 даны уровни маркеров в зависимости от индексов системы TNM. Отмечено статистически значимое увеличение уровней MMP-2 и TIMP-2 с увеличением индекса T – размера и распространенности первичной опухоли ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно; тест Краскела – Уоллиса). Уровень MMP-2 в опухолевой ткани также значимо возрастал с увеличением индекса N (вовлеченность регионарных лимфатических узлов;  $p < 0,01$ ) и был выше у больных с отдаленными метастазами, чем у пациентов без метастазов ( $p < 0,05$ ). Содержание MMP-9 и MMP-7 в ткани рака желудка не зависело от показателей распространенности процесса.

Вошедшие в настоящее исследование 63 пациента из 66 были прослежены на протяжении

**Таблица 2.** Содержание (нг/мг белка) ММП-2, 7, 9 и ТИМП-2 в опухолях больных раком желудка с учетом показателей распространенности процесса по системе TNM

Индекс	N	ММП-2		ММП-7		ММП-9		ТИМП-2	
		медиана	диапазон	медиана	диапазон	медиана	диапазон	медиана	диапазон
Размер и распространенность первичной опухоли (Т)									
T <sub>1</sub>	13	13,9	6,2–103	0,4	0–11,3	131	0–343	11,5	0–28,7
T <sub>2</sub>	5	32,6	15,7–44,8	1,1	0–3,1	170	19,5–256	21,1	16,8–35,9
T <sub>3</sub>	27	38,1	8,8–96,2	1,7	0–16,6	156	2,5–2000	17,8	9,5–100
T <sub>4</sub>	14	43,0	14,5–123 <sup>*</sup>	1,4	0–10,4	256	25,9–573	25,3	15,4–45,2 <sup>†</sup>
Метастазы в лимфатических узлах (N)									
N <sub>0</sub>	24	21,9	6,2–103	1	0–11,4	138	0–573	15,2	0–44,1
N <sub>1</sub>	26	34,7	12–123	1,1	0–10,4	156	19,5–2000	19	9,5–100
N <sub>2</sub>	9	45,2	8,8–96,2 <sup>‡</sup>	2,8	0–16,6	340	2,5–447	24,7	15–41,4
Отдаленные метастазы (M)									
M <sub>0</sub>	48	30,5	6,2–103	1,4	0–16,6	148	0–2000	17,5	0–100
M <sub>1</sub>	11	49,3	15,2–123 <sup>§</sup>	0,5	0–10,4	262	25,9–485	23	19,1–45,2

ММП – матриксная металлопротеиназа, ТИМП – тканевый ингибитор матриксной металлопротеиназы

<sup>\*</sup>p (T<sub>4</sub>–T<sub>0</sub>) < 0,01 (тест Краскела – Уоллиса)<sup>†</sup>p (T<sub>4</sub>–T<sub>0</sub>) < 0,05 (тест Краскела – Уоллиса)<sup>‡</sup>p (N<sub>2</sub>–N<sub>0</sub>) < 0,01 (тест Краскела – Уоллиса)<sup>§</sup>p (M<sub>1</sub>–M<sub>0</sub>) < 0,05 (тест Манна – Уитни)

от 1 до 85 месяцев (медиана 18,3 месяца). За этот период 33 из них (53%) умерли от прогрессирования основного заболевания в сроки от 1 до 33 месяцев (медиана 7,6 месяца). В качестве пограничных значений для оценки общей выживаемости были приняты показатели медианных уровней исследованных маркеров в ткани рака желудка: 32,6 нг/мг белка – для ММП-2; 1,1 нг/мг белка – для ММП-7; 150 нг/мг белка – для ММП-9 и 18,8 нг/мг белка – для ТИМП-2.

Фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости больных раком желудка оказался высокий уровень ММП-2 в опухоли (рис. 1). При содержании маркера ниже порогового уровня 5-летняя выживаемость составила 58% (медиана не достигнута), при более высоком – 33% (медиана выживаемости – 13 месяцев; p < 0,01).

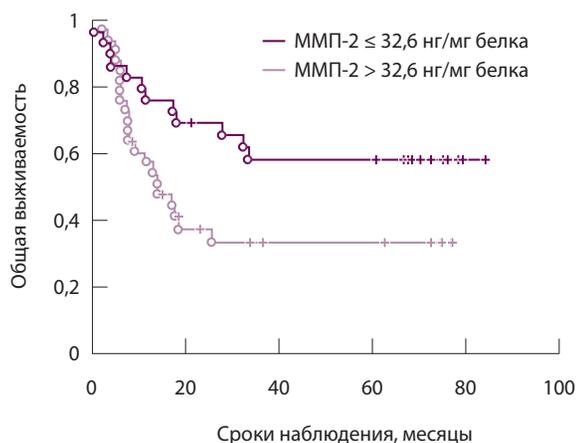
Выживаемость пациентов также была хуже при высоком уровне ТИМП-2 в опухоли (рис. 2), чем при низком уровне маркера (43 и 54% соответственно при 5-летнем сроке наблюдения), но это различие не достигало уровня статистической значимости (p = 0,305).

Парадоксально, но 5-летняя выживаемость больных с высоким содержанием

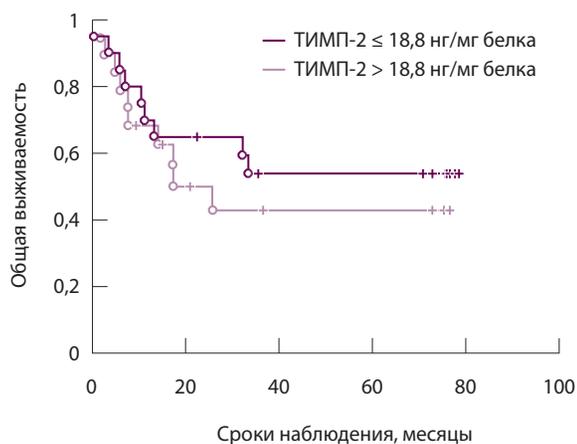
ММП-7 в опухоли оказалась на 14% хуже, чем у пациентов с низким уровнем маркера (рис. 3; p < 0,05). Медиана выживаемости в первой группе составила 19 месяцев, во второй – не была достигнута за весь период наблюдения.

Содержание ММП-9 в опухолевой ткани практически не влияло на общую выживаемость больных раком желудка: 5-летняя выживаемость пациентов с уровнем маркера в опухоли более 150 нг/мг белка составила 46%, пациентов с содержанием маркера ниже этого уровня – 50%; медианы 28 и 33 месяца соответственно.

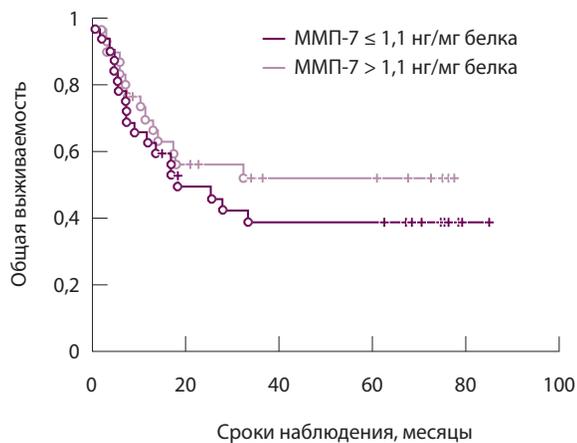
Таким образом, по данным однофакторного анализа, статистически значимыми факторами неблагоприятного прогноза общей выживаемости оказались лишь высокое содержание ММП-2 и низкое – ММП-7 в ткани рака желудка. Важно отметить: уровень ММП-2 статистически значимо положительно ассоциирован с показателями системы TNM, характеризующими распространенность процесса, что может отражаться на его прогностическом значении. Действительно, по данным многофакторного регрессионного анализа, независимыми факторами прогноза были только индекс Т (p = 0,0034) и уровень ММП-7 в опухолевой ткани (p = 0,026).



**Рис. 1.** Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от содержания матриксной металлопротеиназы (ММП)-2 в опухоли ( $p < 0,01$ )



**Рис. 2.** Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от содержания тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы (ТИМП)-2 в опухоли ( $p = 0,035$ )



**Рис. 3.** Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от содержания матриксной металлопротеиназы (ММП)-7 в опухоли ( $p < 0,05$ )

#### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

#### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Опубликованы данные о том, что гиперэкспрессия некоторых ММП, в том числе исследованных нами ММП-2, 7 и 9, является фактором неблагоприятного прогноза выживаемости больных раком желудка [9–11, 13, 14]. Так, по результатам метаанализа данных 10 независимых исследований, повышенная экспрессия ММП-2 увеличивает риск смерти от рака желудка в 1,92 раза (95% доверительный интервал 1,48–2,48) [9]. Обращает на себя внимание, что все работы, вошедшие в этот анализ, выполнены полуколичественным иммуногистохимическим методом, и прогностическое значение ММП-2 было выявлено только в 6 из них. Иммуногистохимическим методом выполнены 6 из 7 работ, вошедших в метаанализ прогностического значения ММП-7 [10], а также 9 из 11 проанализированных исследований тканевой экспрессии ММП-9 [11]. Соответственно, прямое сравнение наших количественных данных с результатами этих публикаций не вполне корректно, хотя нужно подчеркнуть, что нам также удалось продемонстрировать неблагоприятное прогностическое значение высокого содержания ММП-2 в ткани рака желудка. Вместе с тем две группы исследователей, использовавшие иммуноферментный метод оценки экспрессии ММП-9 [15, 16], не нашли прогностического значения для этого маркера, что также соответствует нашим результатам.

#### Заключение

У большинства обследованных больных раком желудка выявлено статистически значимое увеличение уровня экспрессии трех представителей семейства ММП – желатиназ (ММП-2 и ММП-9) и матрилизина (ММП-7) – в опухолях по сравнению с окружающей гистологически неизменной тканью. При этом только уровень ММП-2 был связан с распространенностью процесса, возрастая с увеличением индексов системы TNM. Уровень ТИМП-2 был повышен в опухолях 61% пациентов (различия не достигли уровня статистической значимости) и статистически значимо возрастал с увеличением индекса Т.

Высокое содержание ММП-2 и низкое – ММП-7 в ткани рака желудка являются статистически значимыми факторами неблагоприятного прогноза общей выживаемости пациентов по данным однофакторного анализа, но только уровень ММП-7 сохраняет независимое прогностическое значение по данным многофакторного анализа. Повышенный уровень ТИМП-2 незначительно ухудшает прогноз общей выживаемости, а уровень ММП-9 на него не влияет. ©



## Литература

1. Wu W, Yong WW, Chung MC. A simple biomarker scoring matrix for early gastric cancer detection. *Proteomics*. 2016;16(22):2921–30. doi: 10.1002/pmic.201600194.
2. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ. Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;68(5):16–27. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659.
3. Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.017.
4. Ramnath N, Creaven PJ. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Curr Oncol Rep*. 2004;6(2):96–102. doi: 10.1007/s11912-004-0020-7.
5. Sounni NE, Janssen M, Foidart JM, Noel A. Membrane type-1 matrix metalloproteinase and TIMP-2 in tumor angiogenesis. *Matrix Biol*. 2003;22(1):55–61. doi: 10.1016/S0945-053X(03)00003-9.
6. Westermarck J, Kähäri VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J*. 1999;13(8):781–92. doi: 10.1096/fasebj.13.8.781.
7. Chen J, Chen LJ, Zhou HC, Yang RB, Lu Y, Xia YL, Wu W, Hu LW. Prognostic value of matrix metalloproteinase-9 in gastric cancer: a meta-analysis. *Hepatogastroenterology*. 2014;61(130):518–24.
8. Sampieri CL, León-Córdoba K, Remes-Troche JM. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in gastric cancer as molecular markers. *J Cancer Res Ther*. 2013;9(3):356–63. doi: 10.4103/0973-1482.119302.
9. Shen W, Xi H, Wei B, Chen L. The prognostic role of matrix metalloproteinase 2 in gastric cancer: a systematic review with meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(6):1003–9. doi: 10.1007/s00432-014-1630-6.
10. Soleyman-Jahi S, Nedjat S, Abdirad A, Hoorshad N, Heidari R, Zendehelel K. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in gastric cancer survival: a meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122316. doi: 10.1371/journal.pone.0122316.
11. Zhang QW, Liu L, Chen R, Wei YQ, Li P, Shi HS, Zhao YW. Matrix metalloproteinase-9 as a prognostic factor in gastric cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(6):2903–8. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2903.
12. Герштейн ЕС, Короткова ЕА, Щербаков АМ, Пророков ВВ, Головков ДА, Кушлинский НЕ. Матриксные металлопротеиназы 7 и 9 и их тканевые ингибиторы 1 и 4 типа в опухо-

лях и плазме крови больных раком толстой кишки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007;143(4):438–41.

13. Kubben FJ, Sier CF, van Duijn W, Griffioen G, Hanemaaijer R, van de Velde CJ, van Krieken JH, Lamers CB, Verspaget HW. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer. *Br J Cancer*. 2006;94(7):1035–40. doi: 10.1038/sj.bjc.6603041.
14. Mrena J, Wiksten JP, Nordling S, Kokkola A, Ristimäki A, Haglund C. MMP-2 but not MMP-9 associated with COX-2 and survival in gastric cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(6):618–23. doi: 10.1136/jcp.2005.033761.
15. de Mingo M, Morán A, Sánchez-Pernaute A, Iniesta P, Díez-Valladares L, Pérez-Aguirre E, de Juan C, García-Aranda C, Díaz-López A, García-Botella A, Martín-Antona E, Benito M, Torres A, Balibrea JL. Expression of MMP-9 and TIMP-1 as prognostic markers in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(73):315–9.
16. Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K, van der Reijden JJ, Hanemaaijer R, Griffioen G, Lamers CB, Verspaget HW. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer*. 2007;43(12):1869–76. doi: 10.1016/j.ejca.2007.05.013.

## References

1. Wu W, Yong WW, Chung MC. A simple biomarker scoring matrix for early gastric cancer detection. *Proteomics*. 2016;16(22):2921–30. doi: 10.1002/pmic.201600194.
2. Gerstein ES, Kushlinskii NE. Clinical prospects of tumor-associated proteases and their tissue inhibitors investigation in oncologic patients. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013;68(5):16–27. Russian. doi: 10.15690/vramn.v68i5.659.
3. Deryugina EI, Quigley JP. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1803(1):103–20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.017.
4. Ramnath N, Creaven PJ. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Curr Oncol Rep*. 2004;6(2):96–102. doi: 10.1007/s11912-004-0020-7.
5. Sounni NE, Janssen M, Foidart JM, Noel A. Membrane type-1 matrix metalloproteinase and TIMP-2 in tumor angiogenesis. *Matrix Biol*. 2003;22(1):55–61. doi: 10.1016/S0945-053X(03)00003-9.
6. Westermarck J, Kähäri VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J*. 1999;13(8):781–92. doi: 10.1096/fasebj.13.8.781.
7. Chen J, Chen LJ, Zhou HC, Yang RB, Lu Y, Xia YL, Wu W, Hu LW. Prognostic value of matrix metalloproteinase-9 in gastric cancer: a meta-analysis. *Hepatogastroenterology*. 2014;61(130):518–24.
8. Sampieri CL, León-Córdoba K, Remes-Troche JM. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in gastric cancer as molecular markers. *J Cancer Res Ther*. 2013;9(3):356–63. doi: 10.4103/0973-1482.119302.
9. Shen W, Xi H, Wei B, Chen L. The prognostic role of matrix metalloproteinase 2 in gastric cancer: a systematic review with meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(6):1003–9. doi: 10.1007/s00432-014-1630-6.
10. Soleyman-Jahi S, Nedjat S, Abdirad A, Hoorshad N, Heidari R, Zendehelel K. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-7 in gastric cancer survival: a meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122316. doi: 10.1371/journal.pone.0122316.
11. Zhang QW, Liu L, Chen R, Wei YQ, Li P, Shi HS, Zhao YW. Matrix metalloproteinase-9 as a prognostic factor in gastric cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(6):2903–8. doi: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2903.
12. Gershtein ES, Korotkova EA, Shcherbakov AM, Prorokov VV, Golovkov DA, Kushlinskii NE. Matrix metalloproteinases 7 and 9 and their types 1 and 4 tissue inhibitors in tumors and plasma of patients with colorectal cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2007;143(4):459–62.
13. Kubben FJ, Sier CF, van Duijn W, Griffioen G, Hanemaaijer R, van de Velde CJ, van Krieken JH, Lamers CB, Verspaget HW. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer. *Br J Cancer*. 2006;94(7):1035–40. doi: 10.1038/sj.bjc.6603041.
14. Mrena J, Wiksten JP, Nordling S, Kokkola A, Ristimäki A, Haglund C. MMP-2 but not MMP-9 associated with COX-2 and survival in gastric cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(6):618–23. doi: 10.1136/jcp.2005.033761.
15. de Mingo M, Morán A, Sánchez-Pernaute A, Iniesta P, Díez-Valladares L, Pérez-Aguirre E, de Juan C, García-Aranda C, Díaz-López A, García-Botella A, Martín-Antona E, Benito M, Torres A, Balibrea JL. Expression of MMP-9 and TIMP-1 as prognostic markers in gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(73):315–9.
16. Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K, van der Reijden JJ, Hanemaaijer R, Griffioen G, Lamers CB, Verspaget HW. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer*. 2007;43(12):1869–76. doi: 10.1016/j.ejca.2007.05.013.



## ELISA study of matrix metalloproteinases 2, 7, 9 and their type 2 tissue inhibitor in the tumors of gastric cancer patients: clinical and pathologic correlations

E.S. Gershtein<sup>1</sup> • A.A. Ivannikov<sup>2</sup> • V.L. Chang<sup>2</sup> • N.A. Ognerubov<sup>2</sup> • M.M. Davydov<sup>1</sup> • I.S. Stilidi<sup>1</sup> • N.E. Kushlinskii<sup>1</sup>

**Background:** Over the last 10 years the incidence of gastric cancer has declined significantly. Nevertheless, it remains one of the most prevalent malignancies both in Russia and worldwide. Therefore, the problems of early diagnostics, prognosis and individualized treatment choice are still on the agenda. Much attention is paid to the evaluation of molecular biological characteristics of the tumor, as well as to the development of multiparametric prognostic systems for gastric cancer based on its identified characteristics. An important place among potential tumor biological markers belongs to matrix metalloproteinases (MMPs) involved into all the stages of tumor progression, first of all, into the regulation of invasion and metastasizing. **Aim:** Comparative quantitative evaluation of some MMP family members (MMP-2, 7, and 9) and one of the tissue MMP inhibitors (TIMP-2) levels in the tumors and adjacent histologically unchanged mucosa in gastric cancer patients, the analysis of their associations with the main clinical and pathological features of the disease and its prognosis. **Materials and methods:** Sixty six (66) primary gastric cancer patients (32 male and 34 female) aged 24 to 82 years (median, 61 year) were recruited into the study. Twenty two (22) patients were with stage I of the disease, 11 with stage II, 28 with stage III, and 5 with stage IV. The concentrations of the proteins studied were measured in the tumor and unchanged mucosa extracts by standard direct ELISA kits (Quantikine®, R&D Systems, USA). **Results:** Tumor MMP-2, 7 and 9 levels were significantly increased, compared to those in the adjacent histologically unchanged mucosa, in 80, 70 and 72% of gastric cancer patients, respectively, while the increase of TIMP-2 level found in 61% of the tumors was not statistically significant. Tumor MMP-2 and TIMP-2 content was increasing significantly with higher T index – size and advancement of the primary tumor ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$  respectively). Tumor MMP-2 level was also increasing in parallel with the N index (regional lymph node involvement;  $p < 0.01$ ); it was significantly higher in the patients with distant metastases than in

those without them ( $p < 0.05$ ). Tumor MMP-9 and MMP-7 concentrations were not significantly associated with the indices of the tumor progression. The patients were followed up for 1 to 85 months (median, 18.3 months). According to the univariate analysis, high ( $> 32.6$  ng/mg protein) MMP-2 and low MMP-7 ( $< 1.1$  ng/mg protein) levels in the gastric cancer tissue represent statistically significant unfavorable prognostic factors for overall survival. Increased TIMP-2 level is associated with a non-significant decrease in the overall survival ( $p > 0.05$ ), whereas the MMP-9 level was unrelated to the gastric cancer prognosis. Only T index ( $p = 0.0034$ ) and tumor MMP-7 content ( $p = 0.026$ ) remained independent prognostic factors in the multivariate regression analysis. **Conclusion:** The majority of gastric cancer patients demonstrate a significant increase in the expression of three MMP family members, i.e. gelatinases (MMP-2 and 9), and matrilysin (MMP-7), in the tumors, as compared to adjacent histologically unchanged mucosa. Only MMP-2 levels were associated with the disease progression, increasing with higher TNM system indices. High MMP-2 and low MMP-7 content in the gastric cancer tissue are significant unfavorable prognostic factors for the overall survival in the univariate analysis, but only MMP-7 has retained its independent prognostic value in the multivariate assessment.

**Key words:** matrix metalloproteinase 2, matrix metalloproteinase 7, matrix metalloproteinase 9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2, gastric cancer, ELISA

**For citation:** Gershtein ES, Ivannikov AA, Chang VL, Ognerubov NA, Davydov MM, Stilidi IS, Kushlinskii NE. ELISA study of matrix metalloproteinases 2, 7, 9 and their type 2 tissue inhibitor in the tumors of gastric cancer patients: clinical and pathologic correlations. Almanac of Clinical Medicine. 2018;46(4):323–9. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-323-329.

Received 22 March 2018; accepted 22 May 2018

**Elena S. Gershtein** – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 59. E-mail: biochimia@yandex.ru

**Andrey A. Ivannikov** – Surgical Oncologist, Assistant of the Chair of Anatomy, Operative Surgery and Oncology<sup>2</sup>

**Victor L. Chang** – Assistant of the Chair of Anatomy, Operative Surgery and Oncology<sup>2</sup>

**Nikolay A. Ognerubov** – MD, PhD, Professor, Head of the Chair of Anatomy, Operative Surgery and Oncology<sup>2</sup>

**Mikhail M. Davydov** – MD, PhD, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Thoracic Oncology<sup>1</sup>

**Ivan S. Stilidi** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of the Surgical Department of Abdominal Oncology, Director<sup>1</sup>

**Nikolay E. Kushlinskii** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>2</sup> Tambov State University named after G.R. Derzhavin; 33 Internatsional'naya ul., Tambov, 392000, Russian Federation

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.



Оригинальная статья

# Клинико-морфологические особенности аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов

Лищук С.В.<sup>1,2</sup> • Дубова Е.А.<sup>2</sup> • Павлов К.А.<sup>2</sup> • Удалов Ю.Д.<sup>2</sup>

**Лищук Сергей Владимирович** – аспирант<sup>1</sup>, заведующий патологоанатомическим отделением<sup>2</sup>  
✉ 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 190 94 90.  
E-mail: slishuk@fmbcfmba.ru

**Дубова Елена Алексеевна** – д-р мед. наук, врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение<sup>2</sup>

**Павлов Константин Анатольевич** – канд. мед. наук, врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение<sup>2</sup>

**Удалов Юрий Дмитриевич** – канд. мед. наук, заместитель генерального директора по медицинской части<sup>2</sup>

**Актуальность.** В последние годы в мире наблюдается значительный рост интереса к проблеме аутоиммунного панкреатита (АИП), обусловленный расширяющимися возможностями диагностики. В свою очередь, это ведет к росту числа диагностированных случаев АИП. Сегодня принято выделять два типа АИП, характеризующихся различными клиническими проявлениями, а также морфологическими изменениями в ткани железы. При этом воспроизводимость дифференциального диагноза между АИП 1-го и 2-го типов даже среди патологов, специализирующихся в области заболеваний поджелудочной железы, не высока. **Цель** – определить критерии морфологической диагностики АИП 1-го и 2-го типов. **Материал и методы.** Проведено комплексное морфологическое исследование операционного и биопсийного материала от 26 пациентов с АИП. В 22 наблюдениях имел место АИП 1-го типа, в 4 – АИП 2-го типа. Помимо исследования препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили иммуногистохимическое исследование с определением абсолютного количества CD138<sup>+</sup> клеток, IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup> в воспалительных инфильтратах, а также соотношения IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> клеток. **Результаты.** Для АИП 1-го типа характерно наличие «вихреобразного» фиброза ткани поджелудочной железы (81,8% наблюдений) с распространением на околопанкреатическую жировую клетчатку, умеренно выраженной и выраженной лимфоплазмозитарной инфильтрации, признаков облитерирующего или неoblитерирующего флебита. При АИП 2-го типа в препаратах определялся выраженный фиброз с преобладанием перипротокового фиброза («дольковоцентрический») и слабовыраженная

хроническая воспалительная инфильтрация ткани поджелудочной железы, при этом распространение фиброза и воспалительного инфильтрата на околопанкреатическую клетчатку отсутствовало во всех наблюдениях. При АИП 1-го типа количество CD138<sup>+</sup> клеток достигало 101,2 ± 27,9, при АИП 2-го типа – 42,8 ± 20,9 клетки в 1 поле зрения при большом увеличении (ПЗБУ). Абсолютное количество IgG<sup>+</sup> клеток было 99,6 ± 25,7 и 42,1 ± 20,8 клетки в 1 ПЗБУ соответственно. При АИП 1-го типа число IgG4<sup>+</sup> плазматических клеток в инфильтратах составило 74,5 ± 27,2 клетки в 1 ПЗБУ, тогда как при АИП 2-го типа насчитывалось всего 3,4 ± 2,7 клетки в 1 ПЗБУ. Соотношение IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> плазматических клеток было 75 ± 12,6 против 8,4 ± 6,2%, а соотношение IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> клеток – 72,4 ± 12,3 против 8,3 ± 5,9% соответственно. **Заключение.** При дифференциальной диагностике различных типов АИП необходимо учитывать не только характерные гистологические изменения, но и количество CD138<sup>+</sup>, IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup> клеток в воспалительном инфильтрате, а также соотношение IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> клеток.

**Ключевые слова:** аутоиммунный панкреатит, IgG, IgG4, морфологические критерии

**Для цитирования:** Лищук СВ, Дубова ЕА, Павлов КА, Удалов ЮД. Клинико-морфологические особенности аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):330–7. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-330-337.

Поступила 08.02.2018;  
принята к публикации 03.04.2018

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»; 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, 3, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России; 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46, Российская Федерация



**А**утоиммунный панкреатит (АИП) – особая форма хронического панкреатита, характеризующаяся наличием аутоиммунного воспалительного процесса и связанных с ним фиброзных изменений паренхимы поджелудочной железы, вызывающих нарушение функции этого органа [1, 2]. АИП – достаточно редкое заболевание, его истинная распространенность не известна. Считается, что его частота достигает 5–6% среди всех случаев хронического панкреатита [3]. В Японии распространенность АИП 1-го типа составляет 0,8 случая на 100 тыс. населения, а предполагаемая заболеваемость – от 0,28 до 1,08 на 100 тыс., при этом ежегодно диагностируется от 336 до 1300 новых случаев болезни [4].

Несмотря на то что причины АИП неизвестны, данные большей части исследований свидетельствуют о его аутоиммунной природе [5, 6]. По аналогии с другими аутоиммунными заболеваниями в развитии АИП предполагается участие множества патогенетических факторов. В патологический процесс могут быть вовлечены генетические факторы, специфические или опосредованные антигены, аномалии врожденного и приобретенного иммунитета [7]. Как и другие аутоиммунные заболевания, АИП часто сочетается с ревматоидным артритом, синдромом Шегрена и воспалительными заболеваниями толстой кишки. При АИП нередко обнаруживаются разнообразные аутоантитела, такие как антитела против карбогидразы II и ядерного антигена, высокая концентрация IgG4 в плазме крови, олигоклональный тип перестройки гена T-клеточного рецептора гамма. Кроме того, заболевание хорошо отвечает на терапию кортикостероидами [8]. S. Kawa и соавт. [9] выявили связь АИП с гаплотипом DRB1\*0405-DQB1\*0401 HLA в японской популяции. Признаки иммунологических дефектов, такие как гипергаммаглобулинемия, высокие уровни плазменного IgG4 и наличие антител к карбоангидразе II типа и лактоферрину, – важные маркеры этого заболевания. Однако в настоящее время очень немного известно о его патогенезе. Так, неясным остается вопрос, каким образом аутоиммунный процесс запускается в поджелудочной железе и почему он обычно имеет фокальный, а не диффузный характер, как при многих других аутоиммунных заболеваниях.

В последнее время установлено, что АИП – клинически неоднородное заболевание. У 47% пациентов с одним из клинических вариантов болезни возникают ее рецидивы после лечения, тогда как при втором варианте болезни рецидивы отсутствуют. Этот и другие факты позволили выделить

два основных клинических типа АИП [10, 11]. Известно, что важнейшими и наиболее типичными гистологическими изменениями при АИП выступают плотные лимфоплазмочитарные воспалительные инфильтраты, расположенные вокруг как мелких, так и крупных протоков, с наличием зон фиброза, а также отсутствие изменений, присущих хроническому алкогольному панкреатиту. При этом для АИП 1-го типа характерно наличие облитерирующего флебита и большого количества IgG4-положительных клеток в инфильтрате, а для АИП 2-го типа – признаков повреждения эпителия протоков [10, 12].

Цель исследования – определить гистологические и иммуногистохимические критерии диагностики АИП 1-го и 2-го типов.

### Материал и методы

Работа основана на комплексном морфологическом исследовании операционного материала больных, оперированных в 2009–2016 гг. в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. АИП был диагностирован у 26 пациентов. При этом на основании состава воспалительного инфильтрата, характера фиброза, отсутствия или наличия сосудистых изменений, повреждения эпителия протоков, а также количества IgG<sup>+</sup>, IgG4<sup>+</sup> и CD138<sup>+</sup> клеток, в 22 наблюдениях был установлен диагноз АИП 1-го типа, а в 4 – АИП 2-го типа. Среди пациентов с АИП 1-го типа было 18 мужчин и 4 женщины (соотношение мужчин и женщин 4,5:1), возраст их колебался от 37 до 72 лет (средний возраст составил 49 ± 7,6 года). Среди пациентов с АИП 2-го типа были 2 женщины в возрасте 30 и 37 лет и 2 мужчин в возрасте 39 и 45 лет.

Материал для морфологического исследования был фиксирован в 10% нейтральном забуференном формалине непосредственно после изъятия. Гистологическая проводка осуществлялась в вакуумном аппарате стандартным методом изопропил/этанол. Материал заливался в блоки гомогенизированного парафина толщиной 5 мм. Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм готовились непосредственно перед окрашиванием гематоксилином и эозином и иммуногистохимической реакцией. Монтирование проводилось на положительно заряженные стекла с высушиванием в соответствии с рекомендациями производителя. Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к IgG, IgG4 и CD138 выполнялось автоматизированным методом с помощью иммуногистостейнера Ventana BenchMark Ultra с депарафинизацией и демаскировкой в аппарате. Абсолютное значение плазматических клеток,

CD138<sup>+</sup> клеток, IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup> клеток определялось в 3 полях зрения при увеличении объектива 40, в участках их наибольшего скопления (ПЗБУ). Нами оценивалось соотношение IgG4/IgG клеток, а также IgG4/CD138 клеток.

Статистический анализ количественных данных проводили с использованием программного пакета Statistica 10.0. Оценку количественных данных с нормальным распределением проводили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых групп. Оценку количественных данных с ненормальным распределением проводили согласно критериям Манна – Уитни, а также методом Краскела – Уоллиса. Результаты исследования представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ( $M \pm \sigma$ ). За критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке гипотез было принято значение 0,01.

### Результаты и обсуждение

АИП 1-го типа в 17 наблюдениях (77%) проявился симптомами объемного образования поджелудочной железы, у 5 пациентов (23%) – симптомами хронического панкреатита. У 3 пациентов с АИП 2-го типа на первый план в клинической картине выступили признаки хронического панкреатита, у 1 – симптомы объемного образования в головке поджелудочной железы с развитием обструктивной желтухи. Согласно данным литературы, мужчины пожилого возраста с симптомами обструктивной желтухи и отсутствием болевого синдрома в животе страдают, скорее всего, АИП 1-го типа. Типичные пациенты с АИП 2-го типа – женщины среднего возраста с болями в животе [13], что согласуется с полученными нами данными. При лучевых методах исследования АИП 1-го типа характеризовался наличием признаков объемного образования поджелудочной железы, расположенного в области ее головки в 14 (64%) наблюдениях, тела – в 5 (23%) и хвоста – в 3 (13%), при этом у 15 пациентов данные признаки определялись на фоне выраженных диффузных изменений паренхимы органа. При компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии пациентов с АИП 2-го типа во всех наблюдениях имело место увеличение головки и признаки атрофии дистальных отделов железы. Согласно данным R. Manfredi и соавт. [14], у 40% пациентов с АИП 2-го типа отмечается атрофия поджелудочной железы с преимущественным поражением хвоста, что лежит в основе рентгенологического признака «отсутствия хвоста».

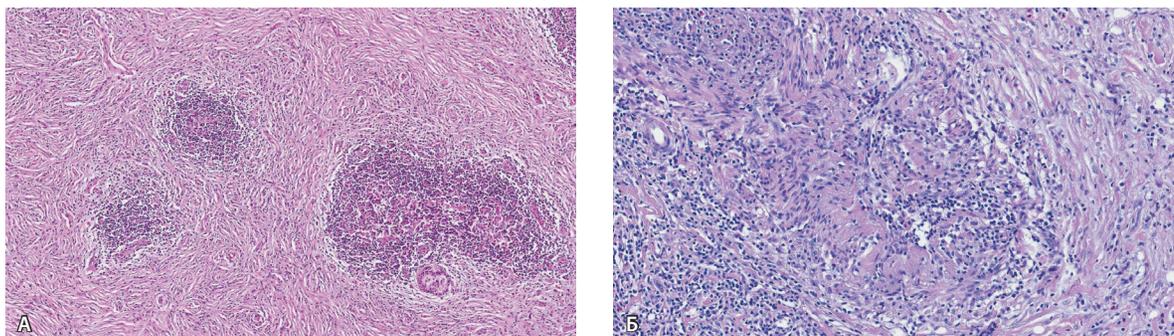
Дооперационная тонкоигольная биопсия образования поджелудочной железы при АИП

1-го типа была выполнена 8 пациентам. По ее результатам в 5 наблюдениях было сделано заключение о наличии у пациента признаков рака поджелудочной железы, в 2 – хронического панкреатита, в 1 случае материал был признан неинформативным. При АИП 2-го типа дооперационная тонкоигольная биопсия образования поджелудочной железы была выполнена 1 пациенту, по ее результатам было сделано заключение о наличии у пациента признаков хронического панкреатита.

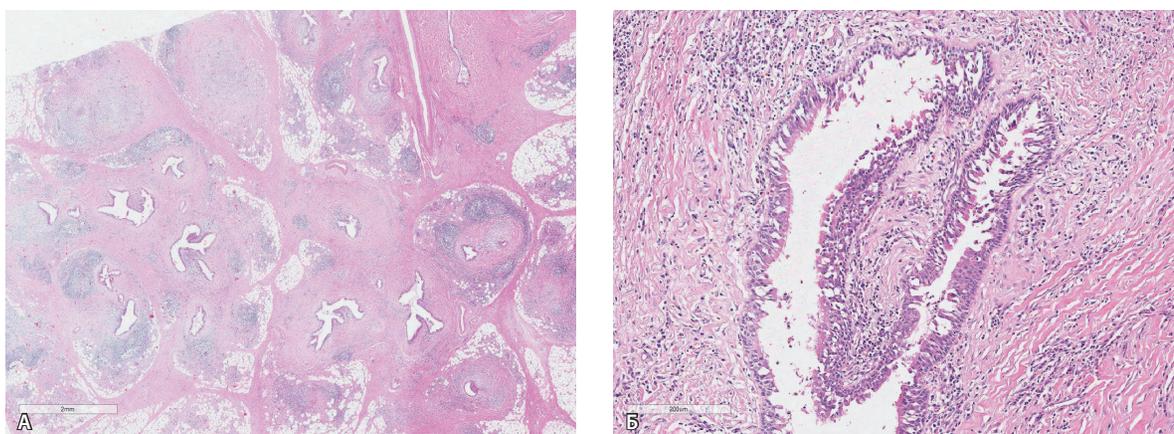
Во всех представленных наблюдениях пациентам была выполнена операция панкреатодуоденальной резекции. При макроскопическом исследовании операционного материала во всех наблюдениях поджелудочная железа была увеличена, плотной консистенции, на разрезе ее ткань была однородной серовато-розовой без очаговых образований. Сдавление вирусунгова протока было отмечено в 9 случаях.

При срочном гистологическом исследовании во всех 11 наблюдениях АИП 1-го типа определялся выраженный фиброз ткани поджелудочной железы с расположенными среди фиброзной ткани деформированными протоковыми структурами. Определялась также очаговая лимфоплазматическая инфильтрация. В 8 наблюдениях по результатам срочного гистологического исследования было сделано заключение о наличии у пациента злокачественной опухоли поджелудочной железы, а в 3 наблюдениях высказано мнение о невозможности полностью исключить злокачественную опухоль.

При плановом гистологическом исследовании операционного материала от пациентов с АИП 1-го типа во всех наблюдениях был выявлен фиброз ткани поджелудочной железы. Фиброз вовлекал преимущественно дольки, имел отчетливо «дольковоцентрический» рисунок, при этом «вихреобразный» фиброз был выявлен в 2/3 наблюдений (рис. 1А), а в 5 случаях фиброз и воспалительный инфильтрат распространялись на околопанкреатическую жировую клетчатку. В 2 наблюдениях определялась выраженная диффузная лимфоплазматическая инфильтрация ткани поджелудочной железы, в остальных наблюдениях инфильтрация была диффузной умеренно-выраженной. Среднее количество плазматических клеток в воспалительном инфильтрате в 1 ПЗБУ составило  $135 \pm 7$ . В 18 наблюдениях среди воспалительного инфильтрата определялись одиночные лимфоидные фолликулы, в 1 случае они были многочисленными, а в 3 отсутствовали. В 10 наблюдениях в воспалительном инфильтрате также присутствовали эозинофилы, причем в 3 – в значительном количестве.



**Рис. 1.** Гистологическая картина аутоиммунного панкреатита 1-го типа: **А** – атрофия ацинусов и «вихреобразный» фиброз ткани поджелудочной железы (×100); **Б** – облитерирующий флебит (×200). Окраска гематоксилином и эозином

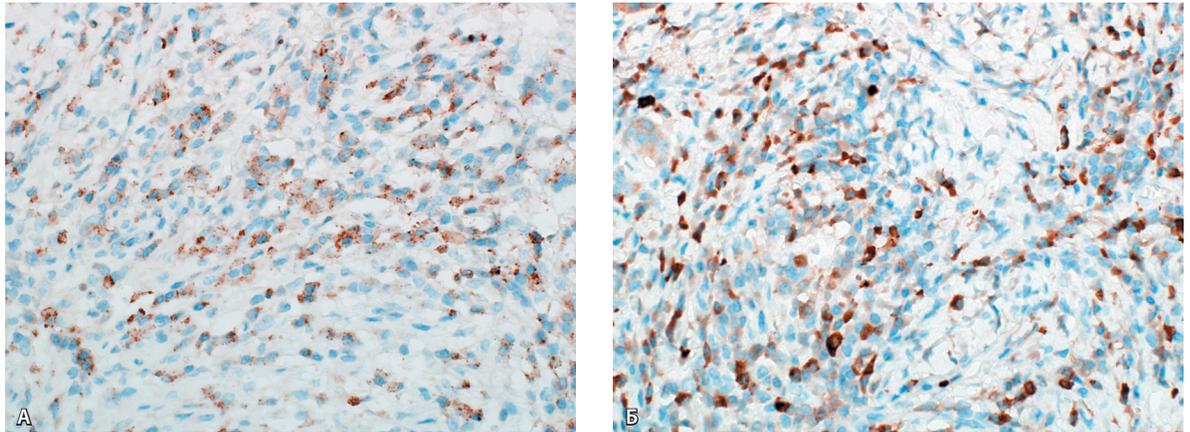


**Рис. 2.** Гистологическая картина аутоиммунного панкреатита 2-го типа: **А** – протоковоцентрический фиброз ткани поджелудочной железы (×40); **Б** – интраэпителиальные абсцессы в протоках поджелудочной железы (×200). Окраска гематоксилином и эозином

Перипротоковая лимфоплазматическая инфильтрация была выявлена в 5 наблюдениях (в 1 случае она вовлекала не только протоки малого и среднего диаметра, но и крупные протоки). Признаки флебита были отмечены в 9 наблюдениях АИП 1-го типа, при этом в 5 это был облитерирующий флебит (рис. 1Б). Атрофия ацинусов отмечалась в 19 наблюдениях АИП 1-го типа, степень ее выраженности варьировала от незначительной до умеренной и коррелировала со степенью фиброза; выраженная атрофия ацинусов была выявлена в 2 случаях. Реактивная гиперплазия регионарных лимфатических узлов была обнаружена в 8 наблюдениях АИП 1-го типа, при этом в 2 наблюдениях также был отмечен очаговый фиброз лимфатических узлов и плазматизация их синусов. У 6 пациентов также отмечалась лимфоплазматическая инфильтрация желчных протоков, желчного пузыря и стенки желудка.

При микроскопическом исследовании препаратов от пациентов с АИП 2-го типа во всех

наблюдениях определялся выраженный фиброз с преобладанием перипротокового фиброза («дольковоцентрический») и слабовыраженная хроническая воспалительная инфильтрация ткани поджелудочной железы (рис. 2А), при этом распространение фиброза и воспалительного инфильтрата на околопанкреатическую клетчатку отсутствовало во всех случаях. Наряду с этим во всех наблюдениях определялись признаки повреждения эпителия протоков поджелудочной железы клетками воспаления в виде язвенных дефектов эпителиальной выстилки и многочисленных внутриэпителиальных абсцессов, содержащих большое количество нейтрофильных гранулоцитов (рис. 2Б). Такие абсцессы обычно хорошо различимы. Язвы были расположены преимущественно в протоках крупного калибра, выстилка которых была замещена грануляционной тканью с многочисленными нейтрофилами. В 2 наблюдениях нейтрофильные инфильтраты затрагивали не только протоки, но и дольки



**Рис. 3.** Иммуногистохимическая характеристика аутоиммунного панкреатита 1-го типа: **А** – экспрессия CD138 в плазматических клетках воспалительного инфильтрата (x400); **Б** – экспрессия IgG4 в плазматических клетках воспалительного инфильтрата (x400). Иммуногистохимическое исследование

**Таблица 1.** Клинические дифференциально-диагностические признаки аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов (по К. Okazaki и К. Uchida, 2015 [7])

Подтип АИП	АИП 1-го типа	АИП 2-го типа
Другое название	АИП без ГЭП Связанный с IgG4 Лимфоплазмоцитарный склерозирующий панкреатит	АИП с ГЭП Не связанный с IgG4 Идиопатический протоковоцентрический хронический панкреатит
Распространенность	Азия > США, Европа	Европа > США > Азия
Возраст	Пожилей	Молодой
Пол	Мужчины >> женщины	Мужчины = женщины (нет значительных различий)
Симптомы		
обструктивная желтуха	Часто	Часто
боль в брюшной полости	Редко	Часто
увеличение поджелудочной железы	Часто	Часто
Серология	Высокий уровень IgG, IgG4, аутоантитела (+)	Нормальный уровень IgG, IgG4, аутоантитела (-)
Вовлечение других органов	Склерозирующий холангит, склерозирующий сиаладенит, ретроперитонеальный фиброз и др.	Нет вовлечения других органов
Язвенный колит	Редко	Часто
Стероиды	Отвечает на терапию стероидами	Отвечает на терапию стероидами
Рецидивы	Высокая частота	Редко

АИП – аутоиммунный панкреатит, ГЭП – гранулоцитарное эпителиальное поражение

поджелудочной железы с формированием гранулем в 1 наблюдении.

Для подтверждения диагноза АИП было выполнено иммуногистохимическое исследование. Во всех наблюдениях АИП 1-го типа было установлено, что воспалительный инфильтрат представлен лимфоцитами и плазматическими клетками, при этом среднее количество плазматических клеток, иммунопозитивных с антителом к CD138 (рис. 3А), достигало  $101,2 \pm 27,9$  клеток в 1 ПЗБУ (варьировало от 52 до 167 клеток). Абсолютное количество IgG<sup>+</sup> клеток варьировало от 50 до 140 в 1 ПЗБУ, при этом среднее число составило  $99,6 \pm 25,7$ . Необходимо отметить, что подсчет IgG<sup>+</sup> клеток удалось произвести только в 58% препаратов (15 из 26), поскольку в остальных образцах отмечалось выраженное фоновое окрашивание. Абсолютное число IgG4<sup>+</sup> плазматических клеток (рис. 3Б) в инфильтратах варьировало от 29 до 132, в среднем составило  $74,5 \pm 27,2$  клетки в 1 ПЗБУ. Соотношение IgG4<sup>+</sup> и IgG<sup>+</sup> плазматических клеток варьировало от 53,7 до 100% (среднее  $75 \pm 12,6\%$ ). В связи с частым фоновым окрашиванием препаратов на IgG и невозможностью определения соотношения IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> плазматических клеток нами было определено соотношение IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup>, которое варьировало от 50,9 до 99,2% (среднее  $72,4 \pm 12,3\%$ ). При иммуногистохимическом исследовании препаратов от пациентов с АИП 2-го типа среднее количество плазматических клеток, иммунопозитивных с антителом к CD138, было в 2,4 раза меньше ( $p < 0,01$ ), чем при АИП 1-го типа, и достигало  $42,8 \pm 20,9$  клеток в 1 ПЗБУ. Среднее количество IgG<sup>+</sup> клеток составило  $42,1 \pm 20,8$  клеток в 1 ПЗБУ. Количество



**Таблица 2.** Морфологические диагностические критерии аутоиммунного панкреатита 1-го и 2-го типов (по K. Okazaki и K. Uchida, 2015 [7], с дополнениями)

Подтип АИП	АИП 1-го типа	АИП 2-го типа
Характер фиброза	Преимущественно внутريدольковый	Преимущественно перипротоковый
	Наличие «вихреобразного» фиброза	Протоковые/дольковые абсцессы
Особенности воспалительного инфильтрата	Лимфоплазмощитарный инфильтрат с примесью эозинофилов	Лимфоплазмощитарный инфильтрат с примесью нейтрофилов
Количество IgG4 <sup>+</sup> клеток в 1 ПЗБУ	> 30	< 10
Соотношение IgG/IgG4	> 40%	< 40%
Соотношение CD138/IgG4	> 40%	< 40%
Наличие флебита	Облитерирующий и необлитерирующий флебит	Повреждение сосудов отсутствует
Эпителий протоков	Не изменен	Изъязвление протоков с нейтрофилами
Ацинусы	Атрофия выражена	Атрофия не выражена
Гранулематозное воспаление	Нет	Относительно редко – перипротоковые эпителиоидноклеточные гранулемы
Распространение фиброза и воспаления за пределы поджелудочной железы	Часто	Нет
Реактивная гиперплазия региональных лимфатических узлов	Часто	Нет

АИП – аутоиммунный панкреатит, ПЗБУ – поле зрения при большом увеличении

IgG4<sup>+</sup> в воспалительном инфильтрате составило  $3,4 \pm 2,7$  клетки (от 0 до 8), что на 95,5% меньше, чем при АИП 1-го типа ( $p < 0,01$ ). Среднее соотношение IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> было  $8,4 \pm 6,2\%$  (от 0 до 21%), IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> –  $8,3 \pm 5,9\%$  (от 0 до 20%).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что АИП 1-го и 2-го типов характеризуются различными клиническими и морфологическими проявлениями. Основные клинические дифференциально-диагностические признаки АИП 1-го и 2-го типов приведены в табл. 1 [7]. К характерным микроскопическим признакам АИП 1-го типа следует отнести изменения междольковой стромы, самые заметные из которых – «вихреобразный»/муаровый фиброз и наличие клеточной стромальной реакции, представленной лимфоцитами, плазматическими клетками и реактивными фибробластами/миофибробластами (табл. 2). В зонах воспаления и фиброза часто определяются облитерированные вены. Напротив, при АИП 2-го типа междольковая строма относительно малоклеточная с одиночными лимфоцитами и плазматическими клетками. Типичным признаком АИП 2-го типа считается

наличие явных проявлений повреждения протоков [15]. В большинстве наблюдений АИП 2-го типа определяется резко выраженное перипротоковое воспаление, в то время как при АИП 1-го типа преобладают внутريدольковый фиброз и воспаление. Среднее число протоков с признаками перипротокового воспаления при АИП 1-го типа значительно меньше, чем при АИП 2-го типа [10]. АИП 1-го типа часто сопровождается системными проявлениями, при этом нередко присутствует одно внепанкреатическое поражение или более. К самым частым внепанкреатическим поражениям относят склерозирующий холангит и лимфаденопатию. Другие наиболее частые внепанкреатические локализации системного поражения при АИП включают слезные и слюнные железы, желудок и почки. Увеличение числа IgG4<sup>+</sup> плазматических клеток в околоподжелудочных лимфатических узлах и слизистой оболочке желудка при АИП 1-го типа также подтверждает гипотезу о необходимости разделения АИП на подтипы. Рецидивы АИП 2-го типа ограничены только поджелудочной железой, при этом иногда отмечаются многократные эпизоды острого панкреатита. Внепанкреатические проявления при

#### Конфликт интересов

В указанный в статье период времени С.В. Лищук работал в отделе патологической анатомии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Материал собирался в рамках его работы над диссертационным исследованием. Разрешение этического комитета ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского получено.

#### Финансирование

Источником финансирования научной работы является ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека».



АИП 2-го типа отсутствуют, однако отмечено, что АИП 2-го типа, так же как и первичный склерозирующий холангит, часто сочетается с язвенным колитом [7].

### Заключение

Разделение АИП на подтипы имеет не только академическое значение, но может быть

использовано для прогнозирования риска развития и рецидива заболевания. При дифференциальной диагностике АИП 1-го и 2-го типов необходимо учитывать не только характерные гистологические изменения, но и количество CD138<sup>+</sup>, IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup> клеток в воспалительном инфильтрате, а также соотношение IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> и IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> клеток. ©

## Литература

1. Щеголев АИ, Павлов КА, Дубова ЕА, Егоров ВИ. Аутоиммунный панкреатит. Архив патологии. 2008;5(70):46–51.
2. Shimosegawa T, Kanno A. Autoimmune pancreatitis in Japan: overview and perspective. *J Gastroenterol.* 2009;44(6):503–17. doi: 10.1007/s00535-009-0054-6.
3. Kim KP, Kim MH, Song MH, Lee SS, Seo DW, Lee SK. Autoimmune chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(8):1605–16. doi: 10.1111/j.1572-0241.2004.30336.x.
4. Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Sumida T, Mimori T, Tanaka Y, Tsubota K, Yoshino T, Kawa S, Suzuki R, Takegami T, Tomosugi N, Kurose N, Ishigaki Y, Azumi A, Kojima M, Nakamura S, Inoue D; Research Program for Intractable Disease by Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW) Japan G4 team. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol.* 2012;22(1): 1–14. doi: 10.1007/s10165-011-0508-6.
5. Егоров ВИ, Павлов КА, Дубова ЕА, Шевченко ТВ, Мелехина ОВ, Свитина КА. Аутоиммунный панкреатит. Хирургическая или терапевтическая проблема? Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2008;(1):62–5.
6. Vasile D, Ilco A, Popa D, Belega A, Pana S. The surgical treatment of chronic pancreatitis: a clinical series of 17 cases. *Chirurgia (Bucur).* 2013;108(6):794–9.
7. Okazaki K, Uchida K. Autoimmune pancreatitis: the past, present, and future. *Pancreas.* 2015;44(7):1006–16. doi: 10.1097/MPA.0000000000000382.
8. Cai O, Tan S. From pathogenesis, clinical manifestation, and diagnosis to treatment: an overview on autoimmune pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract.* 2017;2017:3246459. doi: 10.1155/2017/3246459.
9. Kawa S, Ota M, Yoshizawa K, Horiuchi A, Hamano H, Ochi Y, Nakayama K, Tokutake Y, Katsuyama Y, Saito S, Hasebe O, Kiyosawa K. HLA DRB10405-DQB10401 haplotype is associated with autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Gastroenterology.* 2002;122(5): 1264–9. doi: 10.1053/gast.2002.33022.
10. Zhang L, Chari S, Smyrk TC, Deshpande V, Klöppel G, Kojima M, Liu X, Longnecker DS, Mino-Kenudson M, Notohara K, Rodriguez-Justo M, Srivastava A, Zamboni G, Zen Y. Autoimmune pancreatitis (AIP) type 1 and type 2: an international consensus study on histopathologic diagnostic criteria. *Pancreas.* 2011;40(8):1172–9. doi: 10.1097/MPA.0b013e-318233bec5.
11. Majumder S, Takahashi N, Chari ST. Autoimmune Pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 2017;62(7): 1762–9. doi: 10.1007/s10620-017-4541-y.
12. Zamboni G, Lüttges J, Capelli P, Frulloni L, Cavallini G, Pederzoli P, Leins A, Longnecker D, Klöppel G. Histopathological features of diagnostic and clinical relevance in autoimmune pancreatitis: a study on 53 resection specimens and 9 biopsy specimens. *Virchows Arch.* 2004;445(6):552–63. doi: 10.1007/s00428-004-1140-z.
13. Wu L, Li W, Huang X, Wang Z. Clinical features and comprehensive diagnosis of autoimmune pancreatitis in China. *Digestion.* 2013;88(2): 128–34. doi: 10.1159/000353597.
14. Manfredi R, Graziani R, Cicero C, Frulloni L, Carbognin G, Mantovani W, Mucelli RP. Autoimmune pancreatitis: CT patterns and their changes after steroid treatment. *Radiology.* 2008;247(2):435–43. doi: 10.1148/radiol.2472070598.
15. Notohara K, Nishimori I, Mizuno N, Okazaki K, Ito T, Kawa S, Egawa S, Kihara Y, Kanno A, Masamune A, Shimosegawa T. Clinicopathological Features of Type 2 Autoimmune Pancreatitis in Japan: Results of a Multicenter Survey. *Pancreas.* 2015;44(7):1072–7. doi: 10.1097/MPA.0000000000000438.

## References

1. Shchegolev AI, Pavlov KA, Dubova EA, Egorov VI. Autoimmune pancreatitis. *Archive of Pathology.* 2008;70(5):46–51. Russian.
2. Shimosegawa T, Kanno A. Autoimmune pancreatitis in Japan: overview and perspective. *J Gastroenterol.* 2009;44(6):503–17. doi: 10.1007/s00535-009-0054-6.
3. Kim KP, Kim MH, Song MH, Lee SS, Seo DW, Lee SK. Autoimmune chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(8):1605–16. doi: 10.1111/j.1572-0241.2004.30336.x.
4. Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, Kawano M, Yamamoto M, Saeki T, Matsui S, Sumida T, Mimori T, Tanaka Y, Tsubota K, Yoshino T, Kawa S, Suzuki R, Takegami T, Tomosugi N, Kurose N, Ishigaki Y, Azumi A, Kojima M, Nakamura S, Inoue D; Research Program for Intractable Disease by Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW) Japan G4 team. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol.* 2012;22(1): 1–14. doi: 10.1007/s10165-011-0508-6.
5. Egorov VI, Pavlov KA, Dubova EA, Shevchenko TV, Melekhina OV, Svitina KA. Autoimmune pancreatitis: is this surgical or therapeutic problem? *Khirurgiia (Mosk).* 2008;(1):62–5. Russian.
6. Vasile D, Ilco A, Popa D, Belega A, Pana S. The surgical treatment of chronic pancreatitis: a clinical series of 17 cases. *Chirurgia (Bucur).* 2013;108(6):794–9.
7. Okazaki K, Uchida K. Autoimmune pancreatitis: the past, present, and future. *Pancreas.* 2015;44(7):1006–16. doi: 10.1097/MPA.0000000000000382.
8. Cai O, Tan S. From pathogenesis, clinical manifestation, and diagnosis to treatment: an overview on autoimmune pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract.* 2017;2017:3246459. doi: 10.1155/2017/3246459.
9. Kawa S, Ota M, Yoshizawa K, Horiuchi A, Hamano H, Ochi Y, Nakayama K, Tokutake Y, Katsuyama Y, Saito S, Hasebe O, Kiyosawa K. HLA DRB10405-DQB10401 haplotype is associated with autoimmune pancreatitis in the Japanese population. *Gastroenterology.* 2002;122(5): 1264–9. doi: 10.1053/gast.2002.33022.



10. Zhang L, Chari S, Smyrk TC, Deshpande V, Klöppel G, Kojima M, Liu X, Longnecker DS, Mino-Kenudson M, Notohara K, Rodriguez-Justo M, Srivastava A, Zamboni G, Zen Y. Autoimmune pancreatitis (AIP) type 1 and type 2: an international consensus study on histopathologic diagnostic criteria. *Pancreas*. 2011;40(8):1172–9. doi: 10.1097/MPA.0b013e-318233bec5.
11. Majumder S, Takahashi N, Chari ST. Autoimmune Pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2017;62(7): 1762–9. doi: 10.1007/s10620-017-4541-y.
12. Zamboni G, Lüttges J, Capelli P, Frulloni L, Cavallini G, Pederzoli P, Leins A, Longnecker D, Klöppel G. Histopathological features of diagnostic and clinical relevance in autoimmune pancreatitis: a study on 53 resection specimens and 9 biopsy specimens. *Virchows Arch*. 2004;445(6):552–63. doi: 10.1007/s00428-004-1140-z.
13. Wu L, Li W, Huang X, Wang Z. Clinical features and comprehensive diagnosis of autoimmune pancreatitis in China. *Digestion*. 2013;88(2): 128–34. doi: 10.1159/000353597.
14. Manfredi R, Graziani R, Cicero C, Frulloni L, Carbogno G, Mantovani W, Mucelli RP. Autoimmune pancreatitis: CT patterns and their changes after steroid treatment. *Radiology*. 2008;247(2): 435–43. doi: 10.1148/radiol.2472070598.
15. Notohara K, Nishimori I, Mizuno N, Okazaki K, Ito T, Kawa S, Egawa S, Kihara Y, Kanno A, Masamune A, Shimosegawa T. Clinicopathological Features of Type 2 Autoimmune Pancreatitis in Japan: Results of a Multicenter Survey. *Pancreas*. 2015;44(7):1072–7. doi: 10.1097/MPA.0000000000000438.

## Clinical and morphological characteristics of type 1 and 2 autoimmune pancreatitis

S.V. Lishchuk<sup>1,2</sup> • E.A. Dubova<sup>2</sup> • K.A. Pavlov<sup>2</sup> • Yu.D. Udalov<sup>2</sup>

**Rationale:** In the recent years, an increased interest to autoimmune pancreatitis (AIP) has been seen, related to growing diagnostic potential. In its turn, this leads to an increase in numbers of diagnosed AIP cases. At present, two types of AIP have been described with diverse clinical manifestation and morphology of the pancreas. However, the reproducibility of the differential diagnosis between AIP type 1 and 2 is low even among pancreatic pathologists. **Aim:** To identify criteria for the morphologic diagnosis of AIP type 1 and 2. **Materials and methods:** A morphological study of biopsy and surgical specimens from 26 patients with AIP was performed. There were 22 cases of AIP type 1 and 4 cases of AIP type 2. In addition to hematoxylin eosin staining of the specimens, immunohistochemistry was used with counting of CD138<sup>+</sup> absolute numbers, determination of IgG<sup>+</sup> and IgG4<sup>+</sup> cells in the inflammatory infiltrates, as well as the ratios of IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> and IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> cells. **Results:** AIP type 1 was characterized by storiform fibrosis of the pancreatic tissue (81.8% cases), involving the parapancreatic fat tissue, by moderate-to-severe lymphoplasmocytic infiltration and signs of obliterative/non-obliterative phlebitis. Type 2 AIP was characterized by severe fibrosis with predominantly periductal (centrilobular) fibrosis and mild chronic inflammatory infiltration of the pancreas, while there was no extension of

fibrosis and inflammatory infiltration to the parapancreatic tissues in any case. The mean number of CD138<sup>+</sup> cell in AIP type 1 was 101.2 ± 27.9 per 1 high-power field (HPF), and in AIP type 2, it was 42.8 ± 20.9 per 1 HPF. The mean absolute number of IgG<sup>+</sup> cells in AIP type 1 was 99.6 ± 25.7 per 1 HPF, whereas in AIP type 2, 42.1 ± 20.8 per 1 HPF. In AIP type 1, the mean number of IgG4<sup>+</sup> plasmatic cells in the infiltrates was 74.5 ± 27.2 per 1 HPF, whereas in AIP type 2, it was 3.4 ± 2.7 per 1 HPF. The IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> ratio was 75 ± 12.6% vs. 8.4 ± 6.2%, and the IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> ratio was 72.4 ± 12.3% vs. 8.3 ± 5.9% in AIP type 1 and type 2, respectively. **Conclusion:** For the differential diagnosis of type 1 and 2 AIP, it is necessary to take into consideration not only typical histological abnormalities, but also the numbers of CD138<sup>+</sup>, IgG<sup>+</sup> and IgG4<sup>+</sup> cells within the inflammatory infiltrate, as well as the IgG4<sup>+</sup>/IgG<sup>+</sup> and IgG4<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> ratios.

**Key words:** autoimmune pancreatitis, IgG, IgG4, morphological criteria

**For citation:** Lishchuk SV, Dubova EA, Pavlov KA, Udalov YuD. Clinical and morphological characteristics of type 1 and 2 autoimmune pancreatitis. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):330–7. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-330-337.

Received 8 February 2018; accepted 3 April 2018

### Conflicts of interests

In the period related to this study, S.V. Lishchuk worked in the Department of Pathological Anatomy of the Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI). The study material was collected as part of his activities within his dissertational research. The study had been approved by the Ethical Committee of the MONIKI.

### Acknowledgments

The research was funded by the Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute of Human Morphology".

**Sergey V. Lishchuk** – MD, Postgraduate Student<sup>1</sup>, Head of Department of Pathology<sup>2</sup>  
✉ 46 Zhivopisnaya ul., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 190 94 90.  
E-mail: slishuk@fmbcfmba.ru

**Elena A. Dubova** – MD, PhD, Pathologist, Department of Pathology<sup>2</sup>

**Konstantin A. Pavlov** – MD, PhD, Pathologist, Department of Pathology<sup>2</sup>

**Yuriy D. Udalov** – MD, PhD, Head Physician<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Human Morphology; 3 Tsyurupy ul., Moscow, 117418, Russian Federation

<sup>2</sup> Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical Biological Agency; 46 Zhivopisnaya ul., Moscow, 123182, Russian Federation



Оригинальная статья

# Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций

Нероев В.В.<sup>1</sup> • Саакян С.В.<sup>1</sup> • Амирян А.Г.<sup>1</sup> • Цыганков А.Ю.<sup>1</sup> • Бурденный А.М.<sup>2</sup> • Логинов В.И.<sup>2</sup> • Хлгатян М.Р.<sup>1</sup>

**Нероев Владимир Владимирович** – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор<sup>1</sup>

**Саакян Светлана Владимировна** – д-р мед. наук, профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

**Амирян Ануш Гамлетовна** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>  
✉ 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 608 41 44. E-mail: amiryan@yandex.ru

**Цыганков Александр Юрьевич** – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

**Бурденный Алексей Михайлович** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики<sup>2</sup>

**Логинов Виталий Игоревич** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории патогеномики и транскриптомики<sup>2</sup>

**Хлгатян Мариам Рубеновна** – врач-офтальмолог, аспирант отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

**Актуальность.** В последние годы при прогнозировании течения увеальной меланомы (УМ) большое значение приобретают молекулярно-генетические прогностические факторы. В клинической практике молекулярно-генетические методы используют для выявления пациентов с высоким риском развития метастазов. **Цель** – определить выживаемость больных УМ после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций. **Материал и методы.** Обследованы и пролечены 30 больных УМ в возрасте от 23 до 83 лет. Во всех случаях проведена энуклеация. Удаленные глаза подверглись морфологическому, молекулярно-генетическому и цитогенетическому анализу (потеря гетерозиготности на хромосомах 1, 3 и 8, метилирование гена *RASSF1A*, мутации в генах *GNAQ/11*, полиморфизм гена *ABCB1*). Медиана наблюдения составила 61 месяц. **Результаты.** Кумулятивная трехлетняя доля выживших больных УМ была  $77,8 \pm 8\%$ , а пятилетняя –  $63 \pm 9\%$ . Средние значения времени выживания составили  $52,8 \pm 3,9$  месяца. Больные с моносомией хромосомы 3 демонстрировали значимо более низкие показатели пятилетней выживаемости, чем больные с частичной моносомией и без потери гетерозиготности в хромосоме 3 (лог-ранк тест,  $\chi^2 = 14,111$ ,  $p = 0,001$ ). Потеря гетерозиготности на хромосомах 1 и 8, метилирование гена *RASSF1A*, мутации в генах *GNAQ/11* и полиморфизм гена *ABCB1* не были ассоциированы

с худшим витальным прогнозом. **Заключение.** Молекулярно-генетические aberrации играют важную роль в прогнозировании течения опухолевого процесса и определении риска гематогенного метастазирования у больных УМ. Доказана значимая роль выявления моносомии хромосомы 3. В связи с относительно малой выборкой (30 пациентов), а также наличием временного фактора (анализ пятилетней выживаемости) роль других молекулярно-генетических изменений не подтверждена, что требует оценки не только генетических, но и клинико-эхографических и морфологических прогностических факторов.

**Ключевые слова:** увеальная меланома, генетика, выживаемость, молекулярно-генетические изменения, моносомия хромосомы 3, делеция хромосомы 1, делеция хромосомы 8, метилирование гена *RASSF1A*, мутации генов *GNAQ/GNA11*, полиморфизм гена *ABCB1*

**Для цитирования:** Нероев ВВ, Саакян СВ, Амирян АГ, Цыганков АЮ, Бурденный АМ, Логинов ВИ, Хлгатян МР. Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):338–46. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-338-346.

Поступила 07.05.2018;  
принята к публикации 18.06.2018

<sup>1</sup> ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России; 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУН «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8, Российская Федерация



**В** последние годы при прогнозировании течения увеальной меланомы (УМ) большое значение приобретают молекулярно-генетические прогностические факторы. Необходимо учитывать, что УМ – не моногенное, а мультифакторное заболевание со сложным молекулярным строением. В клинической практике молекулярно-генетические методы используют для выявления пациентов с высоким риском развития метастазов [1, 2]. Несмотря на возможность достижения хорошего локального контроля опухоли в краткосрочном и среднесрочном, а в ряде случаев и в долгосрочном периоде наблюдения, частота метастазирования остается около 50% через 5 лет независимо от проведенного лечения [3]. Эффективное лечение метастатической УМ также весьма ограничено [4].

Выявление микрометастазов на ранних стадиях и определение правильной тактики ведения пациентов – одна из важнейших задач офтальмоонкологии. Для прогнозирования течения заболевания были определены некоторые клинические, гистологические и генетические факторы, важнейшими из которых принято считать полную потерю одной копии (моносомию) 3-й хромосомы и специфический набор генов опухоли [5, 6]. При этом данные критерии необходимы не только для более точной диагностики и прогнозирования течения заболевания, но и для отбора пациентов для адьювантной терапии и контроля за циркулированием опухолевых клеток. Следует отметить, что специфические опухолевые маркеры, такие как *GNAQ/GNA11* или *BAP1*, могут служить мишенями для селективной терапии, затрагивающей специфические сигнальные пути развития опухоли [7].

Цель исследования – определить выживаемость больных УМ после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций.

## Материал и методы

В рамках проспективного исследования с марта по декабрь 2012 г. обследованы и пролечены 30 больных УМ в возрасте от 23 до 83 лет (средний возраст  $51,3 \pm 12$  лет), в том числе 18 (60%) женщин и 12 (40%) мужчин. Диагноз УМ устанавливали на основании клинико-инструментальных методов и подтверждали при патоморфологическом исследовании. Всем больным проводили комплексное офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, тонометрию, компьютерную периметрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, эхографию с регистрацией показателей кровотока в опухоли, по показаниям оптическую

когерентную томографию, флюоресцентную ангиографию, компьютерную томографию органов брюшной полости и рентгенографию органов грудной клетки для исключения отдаленных метастазов. По данным ультразвукового сканирования проминенция УМ варьировала от 2,6 до 13,8 мм (в среднем –  $8,6 \pm 2,9$  мм), диаметр основания был от 8,2 до 21,9 мм (в среднем –  $15 \pm 3,4$  мм). Во всех случаях проведена энуклеация пораженного глаза с морфологическим и молекулярно-генетическим исследованием, что стало основным критерием соответствия и включения в исследование. Критерием исключения было отсутствие данных динамического наблюдения за больными.

Все клинико-морфологические исследования проведены на базе ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, молекулярно-генетические – на базе лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (заведующий лабораторией – д-р биол. наук, профессор В.В. Носиков). От всех больных получено добровольное информированное согласие на медицинские процедуры и включение данных в последующий анализ.

По данным патогистологического исследования веретенноклеточный тип меланомы установлен у 16 (53,3%) больных, смешанноклеточный тип – у 9 (30%) и эпителиоидноклеточный – у 5 (16,7%).

Для выявления мутации в генах *GNAQ/GNA11* и полиморфизма гена *ABCBI/MDR1* применяли метод определения полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ). Использованы нуклеотидные последовательности праймеров, описанные нами ранее [8, 9]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 60 мМ Трис-НСl, рН 8,9, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 25 мМ КCl, 0,1% Тритон X-100; 0,25 мМ каждого dNTP; 1–10 нг ДНК; 25 пмоль каждого праймера; 2,0 ед. Таq-полимеразы («СибЭнзим», Россия); MgCl<sub>2</sub> в концентрации 2,0 мМ. Амплификацию проводили по следующей программе: 95 °С, 1 мин 30 с; 35 циклов 92 °С, 15 с; 60 °С, 20 с; 72 °С, 15 с; 72 °С, 1 мин 30 с, на амплификаторе Терцик (Россия). Далее амплифицированный фрагмент ДНК подвергали обработке соответствующей рестриктазой. Проверка полноты расщепления ДНК рестриктазами осуществлялась путем расщепления 1 мкг фага лямбда за 1 час. Для продукта амплификации использовали трехкратное

количество фермента. При наличии мутантного *TT* генотипа амплифицируемый в ходе ПЦР фрагмент гена *ABCB1* размером 206 п.н. гидролизует-ся рестриктазой *PstI* на два фрагмента – 143 п.н. и 63 п.н. В гетерозиготном генотипе гена *ABCB1* – *CT* присутствуют все 3 фрагмента. Результаты ПДРФ анализировали электрофоретически в 10% полиакриламидном геле с добавлением бромистого этидия (0,5 мкг/мл) и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете.

Для анализа аллельных делеций были использованы микросателлитные маркеры и праймеры, описанные ранее [5]. Панель включала ди-, три- и тетрамерные высокополиморфные локусы, выбранные из базы данных CHLC (Cooperative Human Linkage Center) и GDB (Genome Data Base). Перед проведением анализа ДНК была выровнена. Различие в концентрациях образцов внутри пары составляло не более 5%. ПЦР проводили аналогично описанному выше. Продукты ПЦР разделяли электрофоретически в вертикальном блоке 10–12% полиакриламидного геля в 1×TBE буфере при напряженности электрического поля 15 В/см. В качестве маркеров использовали ДНК плазмиды pUC19, расщепленную рестриктазой *MspI*, а также маркер с шагом 100 п.н. (100 bp DNA ladder). Полиакриламидные гели окрашивали в растворе, содержащем 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Картины электрофоретического разделения геномной ДНК наблюдали и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Потерю гетерозиготности выявляли при анализе разделенных в полиакриламидном геле продуктов ПЦР, проведенного на препаратах ДНК, выделенных из опухолевого материала и контрольной (нормальной) ткани. При анализе потери гетерозиготности сравнивали интенсивность аллелей высокого и низкого молекулярного веса в соответствующих парах опухоль / норма. Случаи с уменьшением интенсивности одного из аллелей на 50% и более рассматривали как потерю гетерозиготности.

Анализ статуса метилирования промоторных районов гена *RASSF1A* проводили методом метилчувствительного рестрикционного анализа, основанного на способности метилчувствительных эндонуклеаз рестрикции оставлять негидролизованную участки ДНК, содержащие 5-метилцитозин вместо цитозина. ДНК последовательно инкубировали с *HpaII* (CCGG) и *HhaI* (GCGC), метилчувствительными рестриктазами и *MspI* (CCGG), метилнечувствительной рестриктазой, и полученные фрагменты использовали в качестве матрицы для ПЦР. Расщепление ДНК при 37 °С рестриктазами *HhaI*, *HpaII* и *MspI* проводили

в буфере Y (“MBI Fermentas”). В качестве контроля сохранности ДНК (K2) использовали продукт ПЦР фрагмента экзона 1 гена *RARβ2* (229 п.н.), так как этот фрагмент не содержит участков узнавания указанных рестриктаз. Полноту расщепления образцов ДНК ферментами проверяли с помощью амплификации фрагмента гена β-3А-адаптина (445 п.н.) (K1), который содержит неметилированные участки узнавания рестриктаз *HpaII*, *HhaI* (как в норме, так и в опухоли). Праймеры и условия ПЦР описаны нами ранее [10]. ПЦР проводили аналогично описанному выше. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле.

Динамическое наблюдение пациентов проводили на базе ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, а также у офтальмолога и онколога по месту жительства пациентов. Продолжительность исследования составила 5 лет – с января 2013 по январь 2018 года. Контрольные осмотры пациентов проводили каждые 6 месяцев: очный осмотр пациентов для исключения рецидива опухоли в орбите после энуклеации (биомикроскопия, эхография и компьютерная томография полости удаленного глаза), а также контроль состояния органов-мишеней для исключения генерализации процесса (эхография или компьютерная томография органов брюшной полости, рентгенография органов грудной клетки). При неявке больного на назначенный осмотр проводили запрос данных о состоянии здоровья и/или причине смерти по месту жительства. Основной исход исследования – ассоциация выживаемости пациентов с изучаемыми молекулярно-генетическими изменениями, что оценивали методами анализа медицинской документации по месту жительства пациентов или данных собственного динамического наблюдения.

Настоящее исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (протокол № 8 от 24.02.2012).

Медиана наблюдения составила 61 (95% доверительный интервал (ДИ) 23,5–67) месяц. За данный период наблюдения 10 человек (1/3) погибли от метастатической болезни.

Для обработки все полученные данные были преобразованы в электронные таблицы в форматах Excel и SPSS (Statistical Package for the Social Science). Статистический анализ проводили в пакетах программы Microsoft Windows 7, IBM SPSS Statistics 23.0. Размер выборки предварительно не рассчитывался. Рассчитывались средние значения, стандартные (средние квадратичные) отклонения, медианы, 25 и 75-й процентиля, максимальные и минимальные



значения; для определения вероятности развития события в процессе наблюдения применяли метод Каплана – Мейера; с помощью лог-ранк теста ( $\chi^2$ , логарифмический ранговый тест) определяли различия развития события в двух и более исследуемых группах больных.

## Результаты

Анализ выживаемости показал, что кумулятивная трехлетняя доля выживших больных УМ составила  $77,8 \pm 8\%$ , а пятилетняя –  $63 \pm 9\%$ . При этом средние значения времени выживания были  $52,8 \pm 3,9$  (95% ДИ 50,5–65,9) месяца.

Анализ выживаемости больных в зависимости от статуса хромосомы 3 дал следующие результаты: больные с моносомией хромосомы 3 демонстрировали значимо более низкие показатели пятилетней выживаемости, чем больные с частичной моносомией и без потери гетерозиготности в хромосоме 3 (лог-ранк тест,  $\chi^2 = 14,111$ ,  $p = 0,001$ ) (рис. 1). Всего полную моносомию хромосомы 3 определяли у 12 пациентов.

Потеря гетерозиготности в хромосоме 1p выявлена у 9 больных УМ, 4 из которых погибли от отдаленных метастазов. У остальных 6 погибших больных изменений статуса хромосомы 1p не выявлено. Кумулятивная доля выживших больных без потери гетерозиготности хромосомы 1p через 5 лет динамического наблюдения составила  $66,7 \pm 11\%$ , у больных с потерей гетерозиготности в хромосоме 1p –  $50 \pm 18\%$ . При этом средние значения времени выживания у больных без потери гетерозиготности хромосомы 1p и с таковой были  $60,1 \pm 3,13$  (95% ДИ 54–66,2) и  $44,8 \pm 8,8$  (95% ДИ 27,4–62,1) месяца соответственно. Анализ результатов выживаемости больных УМ с потерей гетерозиготности хромосомы 8p и без таковой показал, что кумулятивная доля выживших при пятилетнем наблюдении у больных без потери гетерозиготности хромосомы 8p составила  $63,6 \pm 0,1\%$ , а у больных с потерей гетерозиготности –  $50,5 \pm 0,25\%$ . При анализе средних значений времени выживания оказалось: у больных без потери гетерозиготности хромосомы 8p этот показатель равнялся  $56,1 \pm 4,2$  (95% ДИ 47,9–64,3) месяца, тогда как у больных с потерей гетерозиготности –  $53,3 \pm 8,8$  (95% ДИ 36–70,5) месяца. Рис. 2 демонстрирует графики выживаемости больных с учетом наличия или отсутствия потери гетерозиготности хромосомы 1p (рис. 2А) и хромосомы 8p (рис. 2Б).

Метилирование промоторных районов гена *RASSF1A* в УМ удалось выявить у 8 (26,7%) из 30 больных, при этом частота его зависела от

клинико-патоморфологических особенностей УМ. В частности, выявлена большая ассоциация частоты метилирования гена *RASSF1A* у больных с веретенноклеточным типом УМ ( $p < 0,05$ ). Из 10 погибших от метастазов метилирование гена *RASSF1A* имело только у 3 больных. Накопленная доля выживших при пятилетнем наблюдении у больных с наличием метилирования гена *RASSF1A* составила  $62,5 \pm 17\%$ , а у больных с отсутствием метилирования гена *RASSF1A* –  $63,2 \pm 11\%$  ( $p > 0,05$ ). Как видно на рис. 3, график выживаемости демонстрирует схожие кривые выживаемости в сравниваемых группах больных.

При проведении ПДРФ-анализа мутации в генах *GNAQ* и *GNAI1* выявлены в большинстве исследуемых препаратов (27 больных, 90%). Из 12 больных УМ с наличием мутации в гене *GNAQ* (*Arg183*) от метастатической болезни погибли 4 человека, из 18 больных без мутаций в гене *GNAQ* (*Arg183*) – 6 человек. Кумулятивная доля выживших при пятилетнем периоде наблюдения у больных без мутации гена *GNAQ* (*Arg183*) составила  $64,7 \pm 12\%$ , тогда как у больных с мутацией данного гена этот показатель оказался ниже и был  $55,6 \pm 17\%$ . Схожие результаты получены и у больных с мутацией в 5-м экзоне (*Gln209*) гена *GNAQ*. В группе больных с отсутствием мутации гена *GNAQ* (*Gln209*) 8 человек погибли от метастатической болезни, в группе больных с выявленной мутацией в данном экзоне погибли двое. При этом кумулятивная доля выживших при отсутствии мутации в гене *GNAQ* (*Gln209*) была  $63,6 \pm 10\%$ , в то время как у больных с мутацией в означенном экзоне этот показатель составил  $50 \pm 25\%$ . При отсутствии мутации в гене *GNAQ*

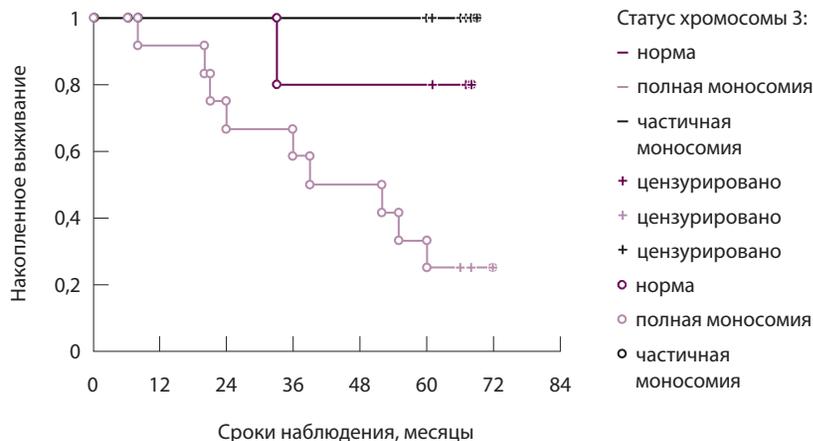
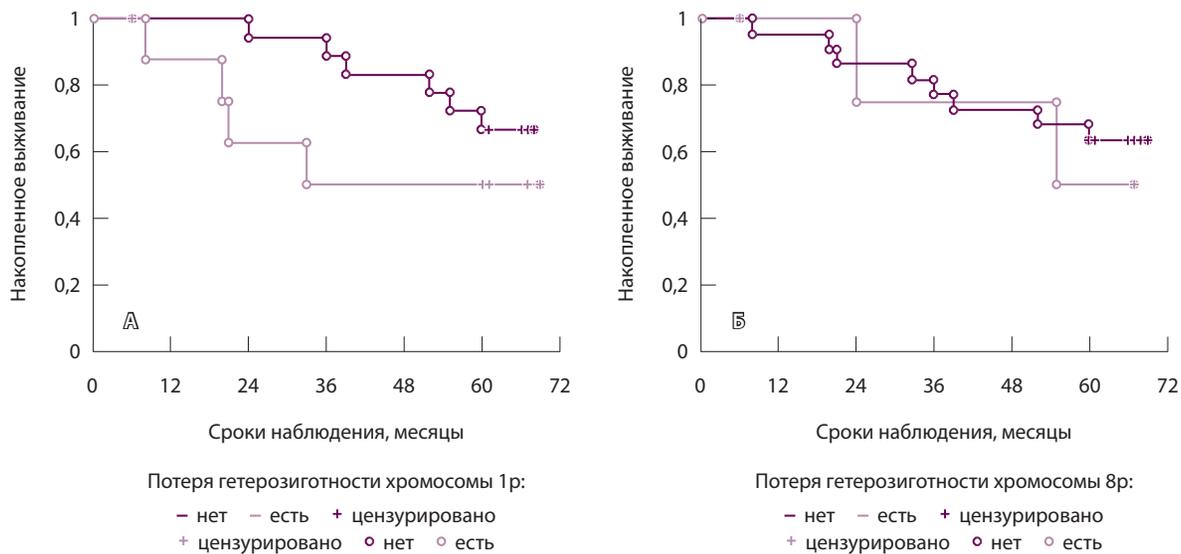


Рис. 1. Выживаемость больных увеальной меланомой в зависимости от фактора потери гетерозиготности в хромосоме 3 (метод оценок Каплана – Мейера)



**Рис. 2.** Выживаемость больных увеальной меланомой в зависимости от фактора потери гетерозиготности в хромосоме 1p (А) (метод оценок Каплана – Мейера, лог-ранк тест,  $\chi^2 = 1,546$ ,  $p > 0,05$ ) и в хромосоме 8p (Б) (метод оценок Каплана – Мейера, лог-ранк тест,  $\chi^2 = 0,174$ ,  $p > 0,05$ )

(*Gln209*) получены следующие средние значения для времени выживания:  $54,6 \pm 4,4$  (95% ДИ 46–63,2) месяца, у больных с наличием мутации –  $62,2 \pm 3,3$  (95% ДИ 55,5–68,5) месяца. Анализ выживаемости не выявил значимых сторонних различий в кривых выживаемости у больных с мутациями гена *GNAQ* (рис. 4).

Мутации гена *GNA11* (*Gln209*) установлены у половины (15 из 30) исследованных больных УМ. В группе больных без мутаций гена *GNA11* (*Gln209*) от отдаленных метастазов погибли 7 из 15 человек, в группе больных с мутацией данного гена – 3 из 15. Накопленная доля выживших у больных в группе без мутации гена *GNA11*

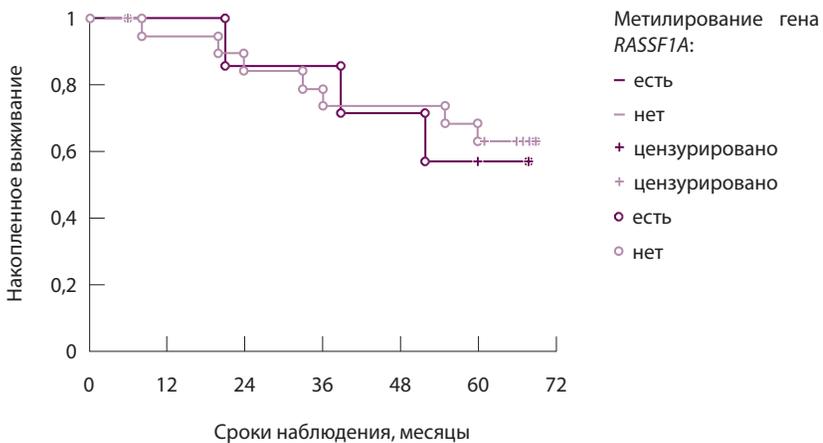
(*Gln209*) составила  $46,2 \pm 13,8\%$ , а в группе больных с мутацией данного гена –  $76,9 \pm 11,7\%$ . При этом средние значения для времени выживания были  $53,2 \pm 4,8$  (95% ДИ 43,7–62,6) против  $58,1 \pm 5,7$  (95% ДИ 46,8–69,3) месяца.

Накопленные доли выживших при пятилетнем наблюдении у больных с генотипом *CC* и *CT* полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* оказались практически одинаковы:  $62,5 \pm 12$  и  $60 \pm 15\%$  соответственно. При этом медиана выживаемости больных УМ с генотипом *CC* составила  $56,6 \pm 4,2$  (95% ДИ 48,4–64,8) месяца, а с генотипом *CT* –  $53,3 \pm 7,1$  (95% ДИ 39,7–67,5) месяца. Таким образом, не выявлено статистически значимых различий в пятилетней выживаемости больных в зависимости от генотипа *CC* и *CT*.

### Обсуждение

В клетках УМ определяют хромосомные изменения, обладающие значимой прогностической ценностью у данной группы пациентов [1]. Показано, что полная потеря хромосомы 3 (моносомия хромосомы 3) ассоциирована со снижением пятилетней выживаемости от примерно 100% до менее 50% из-за метастазов в печень [11, 12].

Кроме того, удвоение длинного плеча хромосомы 8 (полисомия 8q) и потеря короткого плеча хромосомы 1 (моносомия 1p) достоверно коррелируют со снижением выживаемости. В одном из исследований моносомия 3 и полисомия 8q приводили к сопоставимому уменьшению выживаемости пациентов [2]. При их сочетании отмечено



**Рис. 3.** Выживаемость больных увеальной меланомой в зависимости от наличия и отсутствия метилирования промоторного района гена *RASSF1A* (метод оценок Каплана – Мейера, лог-ранк тест,  $\chi^2 = 0,052$ ,  $p > 0,05$ )



снижение пятилетней выживаемости до 30%. Вместе с тем и моносомия 3, и полисомия 8q связаны с другими прогностическими признаками, в частности, с большими размерами опухоли, вовлечением цилиарного тела, наличием эпителиоидных клеток, большим числом митозов и PAS-позитивными замкнутыми контурами [12, 13].

Аналогичные результаты описаны другими авторами. По данным М. Dogrusöz и соавт. [14], при опухолях I стадии, согласно классификации AJCC (American Joint Committee on Cancer), смертность от метастатической болезни зарегистрирована только у пациентов с моносомией хромосомы 3 и удвоением хромосомы 8q ( $p < 0,001$ ). Среди пациентов с УМ II и III стадий худший витальный прогноз был при сочетании моносомии хромосомы 3 и удвоения хромосомы 8q, в то время как клинические результаты лечения при наличии хотя бы одной из указанных аберраций были более благоприятными ( $p < 0,001$ ). Для пациентов без моносомии хромосомы 3 и удвоения хромосомы 8q отмечен лучший витальный прогноз вне зависимости от стадии заболевания. В случае моносомии хромосомы 3, удвоения хромосомы 8q или их сочетания анализ витального прогноза с учетом стадии опухоли по классификации AJCC имеет большую предиктивную значимость. Согласно данным мультивариабельного регрессионного анализа, определение стадии заболевания по AJCC и статуса хромосомы 3 и 8q имеет независимую прогностическую ценность в отношении витального статуса у больных УМ [14]. В исследовании С.Л. Shields и соавт. [15] риск метастазирования при УМ ассоциирован с индивидуальным цитогенетическим профилем, при этом пятилетняя выживаемость варьирует от 96% при наличии дисомии хромосом 3, 6 и 8 до 61% среди пациентов с полной моносомией хромосомы 3, дисомией хромосомы 6 и удвоением хромосомы 8q.

В настоящей работе мы изучали статус хромосом 1, 3 и 8 в группе пациентов с УМ. Нам не удалось подтвердить роль делеций хромосом 1 и 8 в витальном статусе больных УМ. Статистически значимые различия получены только для моносомии хромосомы 3.

Помимо хромосомных аберраций в ряде работ определена роль метилирования промоторного района гена-супрессора опухолевого роста *RASSF1A*, локализованного на 3-й хромосоме, при УМ [10, 16]. Так, С.В. Саакян и соавт. на 30 образцах УМ показали значение данной аберрации как благоприятного прогностического фактора,

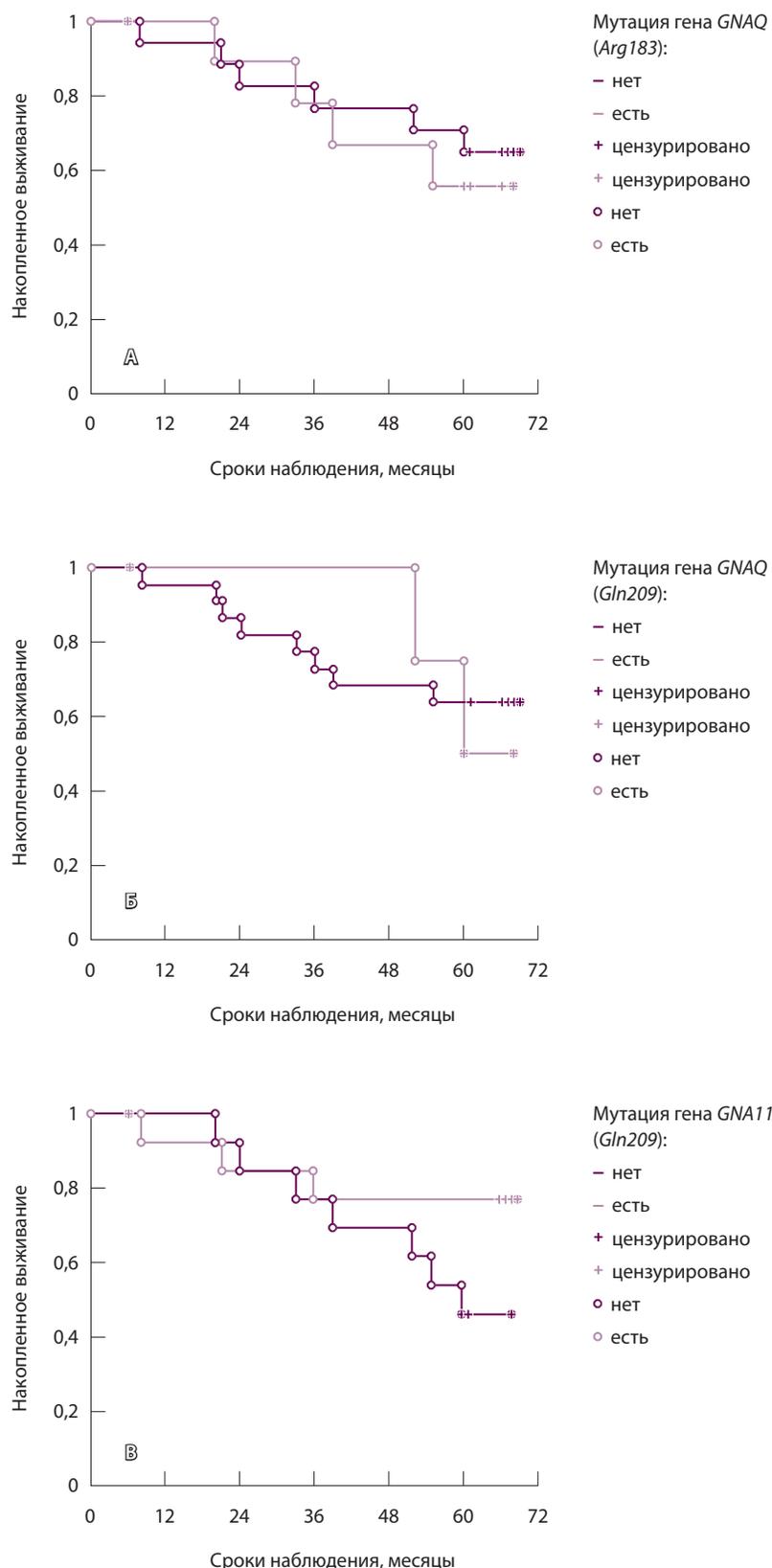
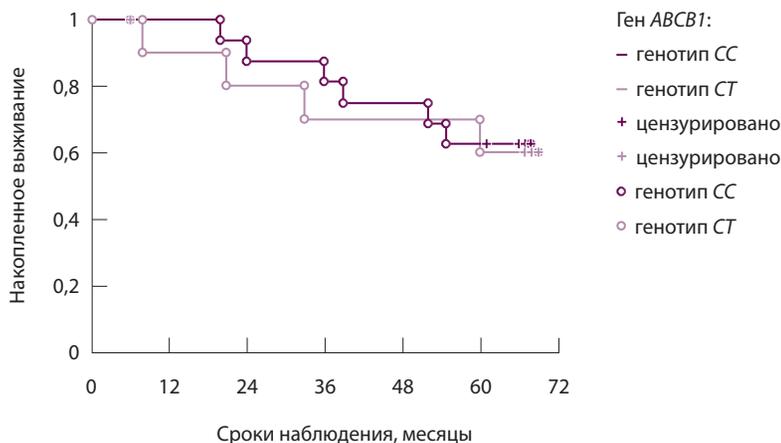


Рис. 4. Выживаемость больных увеальной меланомой в зависимости от наличия мутаций в генах *GNAQ* (А, Б) и *GNA11* (В) (метод оценок Каплана – Мейера, лог-ранк тест,  $p > 0,05$ )



**Рис. 5.** Выживаемость больных увеальной меланомой в зависимости от генотипа *CT* и *CC* полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* (метод оценок Каплана – Мейера, лог-ранк тест,  $\chi^2 = 0,043$ ,  $p > 0,05$ )

ассоциированного с лучшим клиническим течением заболевания [10]. Однако анализ долгосрочной (5 лет и более) выживаемости не выявил статистически значимых различий между пациентами с метилированием гена *RASSF1A* и без такового.

Мутации в генах *GNAQ* или *GNAI1*, кодирующих альфа-субъединицу G-белков, обнаружены в 86–89% первичных увеальных меланом [17, 18]. Частота мутаций в генах *GNAQ/GNAI1* в УМ, локализованных в хориоиде, цилиарном теле или имеющих иридоцилиохориоидальную локализацию, составляет 90% [8]. Изменения в генах *GNAQ/GNAI1* описаны как миссенс-мутации (единичные аминокислотные замены) в кодоне 183 (экзон 4) и 209 (экзон 5) соответственно. Выявление мутаций в генах *GNAQ/GNAI1* в доброкачественных невусах хориоидеи, включая меланоцитомы [19], и большинстве УМ независимо от витального прогноза свидетельствует о возможной триггерной роли данной аберрации в развитии УМ [20].

Определение данных мутаций, характерных именно для первичных УМ, позволяет дифференцировать метастазы УМ от других первичных опухолей. Вместе с тем в большинстве работ не установлено взаимосвязи выявленных мутаций

с витальным прогнозом [19, 20]. В нашем исследовании мы также не выявили ассоциации мутаций в генах *GNAQ/GNAI1* с витальным прогнозом.

За последние годы описан целый ряд дополнительных генетических изменений, связанных с развитием и прогрессированием УМ. В частности, определено место генотипов *CC* и *CT* полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1/MDR1*, кодирующего транспортный белок, гликопротеин P, играющий ключевую роль в выведении целого ряда лекарственных веществ (в том числе препараты, применяемые при лечении УМ). В работе *in vivo* выявлена высокая частота встречаемости предрасполагающих аллелей и генотипов полиморфного маркера *ABCB1/MDR1* у больных УМ и показана ассоциация генотипа *CC* с высотой опухоли, беспигментными формами УМ, состоянием сосудов и неблагоприятными гистологическими типами опухоли [9]. В настоящей работе нам не удалось подтвердить взаимосвязь генотипа *CC* указанного гена с худшим витальным прогнозом. Полагаем: отсутствие ассоциации обусловлено как небольшой выборкой пациентов (30 человек), что представляется недостаточным для оценки роли полиморфизма гена *ABCB1/MDR1*, так и ролью временного фактора. В нашем исследовании мы оценивали пятилетнюю выживаемость у 30 пациентов, и, возможно, с увеличением выборки и сроков наблюдения данные о роли полиморфизма гена *ABCB1/MDR1* будут иными.

## Заключение

Молекулярно-генетические аберрации имеют большое значение при прогнозировании течения опухолевого процесса и определении риска гематогенного метастазирования у больных УМ. Доказана значимость выявления моносомии хромосомы 3. В связи с относительно малой выборкой (30 пациентов), а также наличием временного фактора (анализ пятилетней выживаемости) роль других молекулярно-генетических изменений не подтверждена, что требует оценки не только генетических, но и клиничко-эхографических и морфологических прогностических факторов. ©

### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

## Литература

- Coupland SE, Lake SL, Zeschnigk M, Damato BE. Molecular pathology of uveal melanoma. *Eye (Lond)*. 2013;27(2):230–42. doi: 10.1038/eye.2012.255.
- Caines R, Eleuteri A, Kalirai H, Fisher AC, Heimann H, Damato BE, Coupland SE, Taktak AF. Cluster analysis of multiplex ligation-dependent probe amplification data in choroidal melanoma. *Mol Vis*. 2015;21:1–11.
- Damato BE, Heimann H, Kalirai H, Coupland SE. Age, survival predictors, and metastatic death in patients with choroidal melanoma: tentative evidence of a therapeutic effect on survival. *JAMA Ophthalmol*. 2014;132(5):605–13. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.77.
- Woodman SE. Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments. *Cancer J*. 2012;18(2):148–52. doi: 10.1097/PPO.0b013e31824bd256.



5. Саакян СВ, Цыганков АЮ, Амирян АГ, Логинов ВИ, Бурденный АМ. Потеря гетерозиготности на хромосомах 1, 3, 8 при увеальной меланоме. Молекулярная медицина. 2018;16(2):37–40. doi: 10.29296/24999490-2018-02-05.
6. Isager P, Ehlers N, Overgaard J. Prognostic factors for survival after enucleation for choroidal and ciliary body melanomas. *Acta Ophthalmol Scand.* 2004;82(5):517–25. doi: 10.1111/j.1600-0420.2004.00330.x.
7. Triozzi PL, Eng C, Singh AD. Targeted therapy for uveal melanoma. *Cancer Treat Rev.* 2008;34(3):247–58. doi: 10.1016/j.ctrv.2007.12.002.
8. Саакян СВ, Амирян АГ, Цыганков АЮ, Логинов ВИ, Бурденный АМ. Мутации в онкогенах GNAQ и GNA11 у больных увеальной меланомой. Молекулярная медицина. 2014;(2):34–7.
9. Саакян СВ, Амирян АГ, Цыганков АЮ, Логинов ВИ, Бурденный АМ. Ассоциация гена ABCB1 с риском развития увеальной меланомы. *Архив патологии.* 2014;76(2):3–7.
10. Саакян СВ, Цыганков АЮ, Амирян АГ, Логинов ВИ, Бурденный АМ. Анализ статуса метилирования CPG-островков генов-супрессоров опухолевого роста RASSF1A и SEMA3B при увеальной меланоме. Молекулярная медицина. 2018;16(1):51–4. doi: 10.29296/24999490-2018-01-09.
11. Coupland SE, Kalirai H, Ho V, Thornton S, Damato BE, Heimann H. Concordant chromosome 3 results in paired choroidal melanoma biopsies and subsequent tumour resection. *Br J Ophthalmol.* 2015;99(10):1444–50. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307057.
12. Damato B, Eleuteri A, Taktak AF, Coupland SE. Estimating prognosis for survival after treatment of choroidal melanoma. *Prog Retin Eye Res.* 2011;30(5):285–95. doi: 10.1016/j.preteyeres.2011.05.003.
13. Bronkhorst IH, Maat W, Jordanova ES, Kroes WG, Schaliij-Delfos NE, Luyten GP, Jager MJ. Effect of heterogeneous distribution of monosomy 3 on prognosis in uveal melanoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(8):1042–7. doi: 10.5858/2010-0477-OAR1.
14. Dogrusöz M, Bagger M, van Duinen SG, Kroes WG, Ruivenkamp CA, Böhringer S, Andersen KK, Luyten GP, Kiilgaard JF, Jager MJ. The prognostic value of AJCC staging in uveal melanoma is enhanced by adding chromosome 3 and 8q status. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(2):833–42. doi: 10.1167/iov.16-20212.
15. Shields CL, Say EAT, Hasanreisoglu M, Saktanasate J, Lawson BM, Landy JE, Badami AU, Sivalingam MD, Hauschild AJ, House RJ, Daitch ZE, Mashayekhi A, Shields JA, Ganguly A. Personalized prognosis of uveal melanoma based on cytogenetic profile in 1059 patients over an 8-year period: The 2017 Harry S. Gradle lecture. *Ophthalmology.* 2017;124(10):1523–31. doi: 10.1016/j.optha.2017.04.003.
16. Maat W, van der Velden PA, Out-Luiting C, Plug M, Dirks-Mulder A, Jager MJ, Gruijs NA. Epigenetic inactivation of RASSF1A in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(2):486–90. doi: 10.1167/iov.06-0781.
17. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363(23):2191–9. doi: 10.1056/NEJMoa1000584.
18. Decatur CL, Ong E, Garg N, Anbunathan H, Bowcock AM, Field MG, Harbour JW. Driver mutations in uveal melanoma: associations with gene expression profile and patient outcomes. *JAMA Ophthalmol.* 2016;134(7):728–33. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0903.
19. Mudhar HS, Doherty R, Salawu A, Sisley K, Rennie IG. Immunohistochemical and molecular pathology of ocular uveal melanocytoma: evidence for somatic GNAQ mutations. *Br J Ophthalmol.* 2013;97(7):924–8. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303291.
20. Vader MJC, Madigan MC, Versluis M, Suleiman HM, Gezgin G, Gruijs NA, Out-Luiting JJ, Bergman W, Verdijk RM, Jager MJ, van der Velden PA. GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *Br J Cancer.* 2017;117(6):884–7. doi: 10.1038/bjc.2017.259.
1. Coupland SE, Lake SL, Zeschnigk M, Damato BE. Molecular pathology of uveal melanoma. *Eye (Lond).* 2013;27(2):230–42. doi: 10.1038/eye.2012.255.
2. Caines R, Eleuteri A, Kalirai H, Fisher AC, Heimann H, Damato BE, Coupland SE, Taktak AF. Cluster analysis of multiplex ligation-dependent probe amplification data in choroidal melanoma. *Mol Vis.* 2015;21:1–11.
3. Damato BE, Heimann H, Kalirai H, Coupland SE. Age, survival predictors, and metastatic death in patients with choroidal melanoma: tentative evidence of a therapeutic effect on survival. *JAMA Ophthalmol.* 2014;132(5):605–13. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.77.
4. Woodman SE. Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments. *Cancer J.* 2012;18(2):148–52. doi: 10.1097/PPO.0b013e31824bd256.
5. Saakyan SV, Tsygankov Alu, Amiryani AG, Loginov VI, Burdennyi AM. Loss of heterozygosity on chromosomes 1, 3 and 8 in uveal melanoma patients. *Molecular Medicine.* 2018;16(2):37–40. Russian. doi: 10.29296/24999490-2018-02-05.
6. Isager P, Ehlers N, Overgaard J. Prognostic factors for survival after enucleation for choroidal and ciliary body melanomas. *Acta Ophthalmol Scand.* 2004;82(5):517–25. doi: 10.1111/j.1600-0420.2004.00330.x.
7. Triozzi PL, Eng C, Singh AD. Targeted therapy for uveal melanoma. *Cancer Treat Rev.* 2008;34(3):247–58. doi: 10.1016/j.ctrv.2007.12.002.
8. Saakyan SV, Amiryani AG, Tsygankov AYU, Loginov VI, Burdennyi AM. Mutations in oncogenes GNAQ and GNA11 in uveal melanoma patients. *Molecular Medicine.* 2014;(2):34–7. Russian.
9. Saakyan SV, Amiryani AG, Tsygankov Alu, Loginov VI, Burdennyi AM. Association of the ABCB1 gene with risk for uveal melanoma. *Arhiv patologii.* 2014;76(2):3–7. Russian.
10. Saakyan SV, Tsygankov Alu, Amiryani AG, Loginov VI, Burdennyi AM. The analysis of RASSF1A and SEMA3B tumor suppressor genes CPG-islands methylation status in uveal melanoma patients. *Molecular Medicine.* 2018;16(1):51–4. Russian. doi: 10.29296/24999490-2018-01-09.
11. Coupland SE, Kalirai H, Ho V, Thornton S, Damato BE, Heimann H. Concordant chromosome 3 results in paired choroidal melanoma biopsies and subsequent tumour resection specimens. *Br J Ophthalmol.* 2015;99(10):1444–50. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307057.
12. Damato B, Eleuteri A, Taktak AF, Coupland SE. Estimating prognosis for survival after treatment of choroidal melanoma. *Prog Retin Eye Res.* 2011;30(5):285–95. doi: 10.1016/j.preteyeres.2011.05.003.
13. Bronkhorst IH, Maat W, Jordanova ES, Kroes WG, Schaliij-Delfos NE, Luyten GP, Jager MJ. Effect of heterogeneous distribution of monosomy 3 on prognosis in uveal melanoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(8):1042–7. doi: 10.5858/2010-0477-OAR1.
14. Dogrusöz M, Bagger M, van Duinen SG, Kroes WG, Ruivenkamp CA, Böhringer S, Andersen KK, Luyten GP, Kiilgaard JF, Jager MJ. The prognostic value of AJCC staging in uveal melanoma is enhanced by adding chromosome 3 and 8q status. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(2):833–42. doi: 10.1167/iov.16-20212.
15. Shields CL, Say EAT, Hasanreisoglu M, Saktanasate J, Lawson BM, Landy JE, Badami AU, Sivalingam MD, Hauschild AJ, House RJ, Daitch ZE, Mashayekhi A, Shields JA, Ganguly A. Personalized prognosis of uveal melanoma based on cytogenetic profile in 1059 patients over an



- 8-year period: The 2017 Harry S. Gradle lecture. *Ophthalmology*. 2017;124(10):1523–31. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.04.003.
16. Maat W, van der Velden PA, Out-Luiting C, Plug M, Dirks-Mulder A, Jager MJ, Gruijs NA. Epigenetic inactivation of RASSF1A in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(2):486–90. doi: 10.1167/iovs.06-0781.
17. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(23):2191–9. doi: 10.1056/NEJMoa1000584.
18. Decatur CL, Ong E, Garg N, Anbunathan H, Bowcock AM, Field MG, Harbour JW. Driver mutations in uveal melanoma: associations with gene expression profile and patient outcomes. *JAMA Ophthalmol*. 2016;134(7):728–33. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0903.
19. Mudhar HS, Doherty R, Salawu A, Sisley K, Rennie IG. Immunohistochemical and molecular pathology of ocular uveal melanocytoma: evidence for somatic GNAQ mutations. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(7):924–8. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303291.
20. Vader MJC, Madigan MC, Versluis M, Suleiman HM, Gezgin G, Gruijs NA, Out-Luiting JJ, Bergman W, Verdijk RM, Jager MJ, van der Velden PA. GNAQ and GNA11 mutations and downstream YAP activation in choroidal nevi. *Br J Cancer*. 2017;117(6):884–7. doi: 10.1038/bjc.2017.259.

## Long-term survival of uveal melanoma patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations

V.V. Neroev<sup>1</sup> • S.V. Saakyan<sup>1</sup> • A.G. Amiryanyan<sup>1</sup> • A.Yu. Tsygankov<sup>1</sup> • A.M. Burdenny<sup>2</sup> • V.I. Loginov<sup>2</sup> • M.R. Khlgatyan<sup>1</sup>

**Rationale:** In the recent years molecular genetic prognostic factors are becoming very important for predicting the course of uveal melanoma (UM). In clinical practice, molecular genetic methods are used to identify patients with a high risk of metastases. **Aim:** To determine the survival of UM patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations. **Materials and methods:** Thirty (30) patients with UM aged from 23 to 83 years were examined and treated. In all cases, enucleation was performed. The removed eyes underwent morphological and molecular genetic and cytogenetic analysis (loss of heterozygosity on chromosomes 1, 3 and 8, methylation of the *RASSF1A* gene, mutations in *GNAQ/11* genes, polymorphism of the *ABC1* gene). The median follow-up was 61 months. **Results:** The cumulative 3-year survival of the UM patients was 77.8±8.0%, and the 5-year survival 63.0±9.0%. The mean survival time was 52.8±3.9 months. The patients with chromosome 3 monosomy showed significantly lower 5-year survival rates than the patients with partial monosomy and without loss of heterozygosity in chromosome 3 (log-rank test,  $\chi^2=14.111$ ,  $p=0.001$ ). The loss of heterozygosity on chromosomes 1 and 8, the methylation of the *RASSF1A* gene, the mutations in *GNAQ/11* genes, and the polymorphism of the *ABC1* gene were not associated with poorer

vital prognosis. **Conclusion:** Molecular genetic aberrations play an important role in predicting the course of the tumor process and determining the risk of hematogenous metastasizing in UM patients. The significant role of chromosome 3 monosomy has been proved. Due to the relatively small cohort (30 patients) and the time factor (analysis of 5-year survival), the role of other molecular genetic changes has not been confirmed, which requires an assessment of not only genetic, but also clinical, echographic and morphological prognostic factors.

**Key words:** uveal melanoma, genetics, survival, molecular genetic changes, monosomy of chromosome 3, deletion of chromosome 1, deletion of chromosome 8, *RASSF1A* gene methylation, *GNAQ/GNA11* gene mutations, *ABC1* gene polymorphism

**For citation:** Neroev VV, Saakyan SV, Amiryanyan AG, Tsygankov AY, Burdenny AM, Loginov VI, Khlgatyan MR. Long-term survival of uveal melanoma patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):338–46. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-338-346.

Received 7 May 2018; accepted 18 June 2018

**Vladimir V. Neroev** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Director<sup>1</sup>

**Svetlana V. Saakyan** – MD, PhD, Professor, Head of Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

**Anush G. Amiryanyan** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>  
✉ 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 608 41 44. E-mail: amiryanyan@yandex.ru

**Alexander Yu. Tsygankov** – MD, PhD, Junior Research Fellow, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

**Alexey M. Burdenny** – PhD (in Biology), Senior Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics<sup>2</sup>

**Vitaly I. Loginov** – PhD (in Biology), Leading Research Fellow, Laboratory of Pathogenomics and Transcriptomics<sup>2</sup>

**Mariam R. Khlgatyan** – MD, Ophthalmologist, Postgraduate Student, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases; 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology; 8 Baltiyskaya ul., Moscow, 125315, Russian Federation

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.



Оригинальная статья

# Клинические и морфологические особенности лейкоплакии в Пермском регионе

Седова Т.Г.<sup>1</sup> • Хлебникова А.Н.<sup>2</sup>

Лейкоплакия – хроническое предраковое поражение кожи и слизистых оболочек мультифакторной этиологии. **Цель** – ретроспективный анализ клинико-морфологических особенностей лейкоплакии в Пермском регионе. **Материал и методы.** В работе использованы данные амбулаторных карт, историй болезней, биопсийный материал 332 больных ГБУЗ ПК «Пермский краевой онкологический диспансер» за период 2005–2016 гг. Анализ клинико-морфологических особенностей проводился с учетом анатомической локализации, пола, патогистологических признаков. **Результаты.** Среди пациентов с лейкоплакией преобладали женщины (77,7%) пожилого возраста ( $61,6 \pm 3,5$  года) с частым поражением слизистой оболочки вульвы (71,7%). У мужчин отмечена одинаковая частота локализации заболевания на гениталиях (47,3%) и слизистой полости рта (52,7%). Простая (плоская)

лейкоплакия встречалась в 31,7% случаев, веррукозная – в 45%, эрозивно-язвенная – в 23,3%. При веррукозной лейкоплакии чаще регистрировались гиперкератоз (95,5%) и вакуолярная дегенерация (94,8%). Эрозивно-язвенная форма характеризовалась паракератозом (95,7%), акантозом (84,3%), дискератозом (90%), васкуляризацией дермы (95,7%). Признаки дисплазии отмечены в 52,3% случаев, из них в 90% случаев при эрозивно-язвенной лейкоплакии, в 31,5% при простой и в 47,4% случаев при веррукозной формах. Частота диспластических признаков возрастала по мере увеличения степени дисплазии (SIN). **Заключение.** В Пермском регионе лейкоплакия выявлялась значительно чаще у больных женского пола и преимущественно (96,9%) поражала генитальную область. Риск развития веррукозной и эрозивно-язвенной лейкоплакии на гениталиях у женщин был

больше, чем у мужчин, в 2,27 и 1,75 раза соответственно. При всех клинических формах несколько преобладала SIN 1, соотношение степеней дисплазии было одинаковым. Только совместная оценка клинических и морфологических данных улучшает прогнозирование риска раковой трансформации.

**Ключевые слова:** лейкоплакия, клиника, патоморфология, дисплазия

**Для цитирования:** Седова ТГ, Хлебникова АН. Клинические и морфологические особенности лейкоплакии в Пермском регионе. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):347–54. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-347-354.

Поступила 22.05.2018;  
принята к публикации 13.09.2018

**Л**ейкоплакия – хроническое предраковое поражение слизистых оболочек мультифакторной этиологии, которое клинически проявляется очаговым ороговением кожи и слизистых оболочек [1, 2]. Распространенность лейкоплакии составляет от 0,2 до 5% среди всех эпителиальных новообразований. Известно, что заболевание поражает преимущественно взрослое население в возрасте 50–70 лет [1–3]. При этом показатели заболеваемости значительно различаются в зависимости от географических и демографических факторов. В регионах мира с высокой солнечной активностью, другими неблагоприятными метеорологическими

условиями, а также с некоторыми национально-этническими особенностями питания и поведения населения встречаемость оральной лейкоплакии у мужчин среднего и старшего возраста колеблется от 3,46 до 11,6% [3–6]. Экстенсивные показатели заболеваемости лейкоплакией в Российской Федерации, по данным официальной статистики, составляют 2,1% верифицированных случаев [7]. Поражение слизистой оболочки полости рта выявлено у людей старше 50 лет и характеризуется гендерными и региональными различиями [4, 8]. Поражение аногенитальной области (вульвы и шейки матки) регистрировали чаще у пациенток репродуктивного возраста [9, 10].



**Седова Татьяна**

**Геннадьевна** –  
канд. мед. наук,  
доцент кафедры  
дерматовенерологии<sup>1</sup>  
✉ 614990, г. Пермь,  
ул. Петропавловская,  
26, Медицинский  
университет, кафедра  
дерматовенерологии.  
Тел.: +7 (908) 249 91 99.  
E-mail: sedovca-1978  
@yandex.ru

**Хлебникова Альбина**

**Николаевна** –  
д-р мед. наук,  
профессор кафедры  
дерматовенерологии  
и дерматоонкологии  
факультета  
усовершенствования  
врачей<sup>2</sup>

Показано, что лейкоплакия слизистых оболочек возникает в ответ на хроническое экзогенное и эндогенное раздражение. Важная этиопатогенетическая роль отводится курению, алкоголю, хронической механической травматизации (сколы зубов, патология прикуса, неправильно подобранные зубные протезы и другие факторы, травмирующие слизистую полости рта), профессиональным вредностям (длительное контактное воздействие химических канцерогенов и/или источников ионизирующего излучения на производстве), наследственной предрасположенности (некоторые генетические заболевания и синдромы, ассоциированные с развитием лейкоплакии, – врожденный дискератоз, врожденная пахионихия, идиопатический кератоз Сименса и др.), инфицированию вирусами папилломы человека 11, 16 и 18-го типов, дистрофическим процессам и хроническому воспалению слизистых оболочек и кожи (акантолитическая пузырчатка, эрозивно-язвенный и буллезный красный плоский лишай, склероатрофический лишай аногенитальной области и др.) [10–17].

К преимущественной локализации оральной лейкоплакии относят поражение слизистой оболочки щек (25%), языка (10%), спаек губ (5–10%), твердого нёба (10–20%), дна полости рта (10–25%) и десны (20%) [3]. В генитальной области заболевание может возникать на вульве, клиторе, шейке матки, во влагалище, значительно реже – на головке полового члена, крайней плоти, анусе [2, 3, 9–11].

Клинико-морфологические особенности лейкоплакии зависят от формы заболевания, ее локализации и гистологического строения [3, 14, 17]. Лейкоплакия без атипичии морфологически проявляется гиперкератозом и паракератозом, акантозом, вакуольной дегенерацией, полиморфноклеточным инфильтратом и васкуляризацией дермы [3, 14]. Патоморфологические особенности диспластических процессов характеризуются клеточной и ядерной атипичией разной степени выраженности [3, 6, 18–24].

Результаты многочисленных исследований дают основания рассматривать лейкоплакию как предраковое эпителиальное поражение кожи и слизистых оболочек полости рта, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы [3, 9, 17–19]. Как показано в ряде публикаций, во всем мире наблюдается рост заболеваемости инвазивным плоскоклеточным раком среди больных оральной лейкоплакией [3, 5, 7]. По данным некоторых авторов, злокачественная трансформация лейкоплакии варьирует от 1 до 40% случаев и зависит

от локализации и гистологического строения [7, 9, 19–24]. Отмечен высокий риск малигнизации при локализации лейкоплакии в области дна рта и боковых поверхностей языка у мужчин, вульвы и шейки матки – у женщин [2, 3, 9]. По статистике, простая лейкоплакия трансформируется в плоскоклеточный рак в 7–20% случаев, веррукозная – в 20–30%, а эрозивно-язвенная – у 25–50% больных [17, 21–23].

Таким образом, клинические и морфологические данные остаются наиболее важными факторами для прогнозирования злокачественной трансформации лейкоплакии, что определило актуальность данного исследования. Целью нашей работы был ретроспективный анализ клинико-морфологических особенностей лейкоплакии в Пермском регионе.

## Материал и методы

В исследование включены амбулаторные карты, истории болезни, биопсийный материал слизистой оболочки гениталий и полости рта 332 больных (258 женщин и 74 мужчины) ГБУЗ ПК «Пермский краевой онкологический диспансер» за период 2005–2016 гг. Анализ клинико-морфологических особенностей проводился методом сплошной выборки с учетом анатомической локализации, возраста и пола. Материал, полученный при проведении диагностических биопсий, фиксировали в 10% растворе формалина, забуференном по Лилли при pH 7,4, заливали в парафин по обычной методике, рабочие срезы депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином, микроскопировали с увеличением 50, 100. Оценивались следующие морфологические критерии лейкоплакии: гиперкератоз, паракератоз, дискератоз, акантоз, экзоцитоз, лимфогистиоцитарная инфильтрация, васкуляризация дермы. При морфологическом исследовании использовалась классификация А.Л. Машкиллейсона (1970) с дополнительным определением степени дисплазии.

Для проверки гипотез о равенстве долей использовали критерий  $\chi^2$  с процедурой Мараскуило (для множественного попарного сравнения качественных признаков). Для сравнения частоты заболевания в группах по полу применяли точный критерий Фишера. Для оценки влияния качественных признаков рассчитывали показатель относительного риска (ОР) и 95% доверительный интервал (ДИ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программ Statistica 7.0 и Microsoft Office Excel 2007.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России; 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26, Российская Федерация

<sup>2</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



## Результаты

При ретроспективном анализе возрастного состава отмечено, что женщин с диагнозом лейкоплакии было больше, чем мужчин (77,7 против 22,3%). Возраст больных варьировал от 14 до 90 лет, средний возраст составил  $61,5 \pm 3,6$  года ( $61,6 \pm 3,5$  – у женщин,  $61,3 \pm 3,9$  – у мужчин). Из них жителями Перми были 170 (51,2%), Пермского края 162 (48,8%) пациента.

Анализ частоты локализации лейкоплакии показал: среди женщин чаще встречалось поражение генитальной области – 250 (96,9%) случаев, при этом оральная лейкоплакия выявлялась только в 8 (3,1%) случаях. Поражение слизистой оболочки вульвы отмечено у 185 (71,7%) пациенток. Реже лейкоплакия локализовалась на стенках влагалища – у 33 (12,8%) и шейке матки – у 32 (12,4%) больных. У женщин оральная лейкоплакия поражала слизистую оболочку губ у 5 (1,9%) и щек у 3 (1,2%) пациенток. Среди мужчин установлена одинаковая частота локализации в аногенитальной и оральной области – 35 (47,3%) и 39 (52,7%) соответственно. У мужчин чаще поражалась головка полового члена – 15 (20,3%) больных. Реже лейкоплакия локализовалась на крайней плоти – 12 (16,2%), наружном отверстии уретры – 9 (12,2%) и области ануса – 3 (4,1%) случая. При оральной

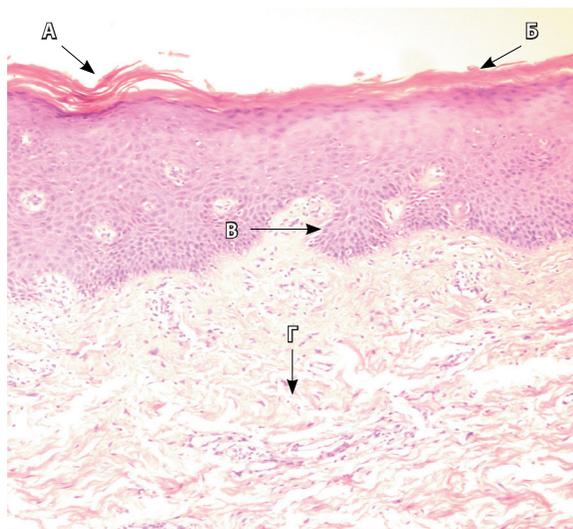
локализации лейкоплакии отмечалось преобладающее поражение слизистой губ – у 17 (22,9%), чем слизистой щек – у 7 (9,4%), десен – у 6 (8,1%) и языка – у 5 (6,8%) больных.

При гистологической оценке биопсийного материала ( $n=300$ ) выявлены следующие виды лейкоплакий (А.Л. Машкиллейсон, 1970): простая (плоская) лейкоплакия встречалась в 95 (31,7%) случаях, веррукозная – в 135 (45,0%), эрозивно-язвенная – в 70 (23,3%). Мы отметили статистически значимое преобладание веррукозной лейкоплакии генитальной локализации у женщин: 118 (52,2%) случаев против 16 (11,8%) у мужчин ( $p < 0,05$ ). У женщин эрозивно-язвенная и простая формы заболевания данной локализации были установлены в 54 (23,9%) и 46 (20,3%) случаях соответственно. Выявлен значительный удельный вес простой лейкоплакии слизистой полости рта у мужчин: 27 (48,6%) случаев против 3 (1,3%) у женщин ( $p < 0,05$ ). При этом частота эрозивно-язвенной лейкоплакии оральной локализации у пациентов мужского пола превысила таковую у женщин (14,9 против 2,2%,  $p < 0,05$ ). Таким образом, веррукозная (52,2%) и эрозивно-язвенная лейкоплакия (23,9%) статистически чаще локализовались в генитальной области у женщин ( $p < 0,05$ ). Простая

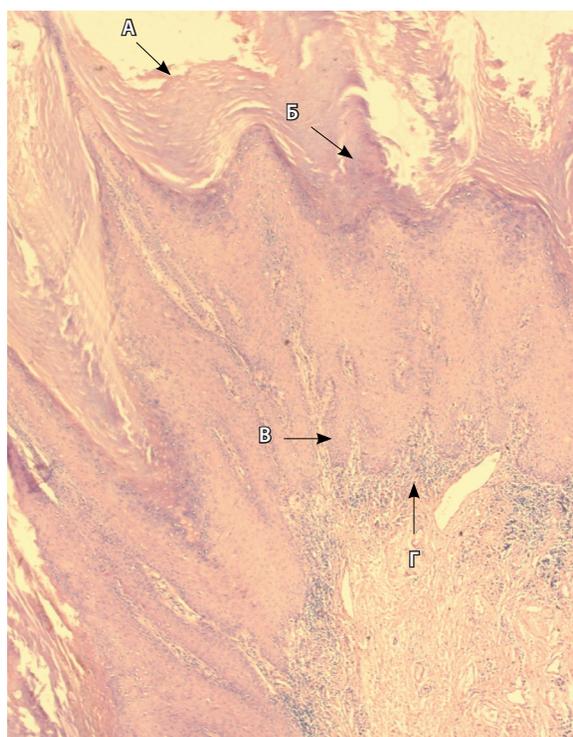
**Таблица 1.** Патоморфологические характеристики лейкоплакии с учетом клинических форм ( $n = 300$ )

Патоморфологические критерии	Клиническая форма, абс. (%)			$p < 0,05$
	простая ( $n = 95$ )	веррукозная ( $n = 135$ )	эрозивно-язвенная ( $n = 70$ )	
	1	2	3	
Гиперкератоз	80 (84,2)	129 (95,5)	–	1–3, 2–3
Паракератоз	78 (82,1)	87 (64,4)	67 (95,7)	1–2, 2–3
Акантоз	56 (58,9)	80 (59,2)	59 (84,3)	1–3, 2–3
Дискератоз	30 (31,6)	64 (47,4)	63 (90)	1–3, 2–3
Экзоцитоз	42 (44,2)	88 (65,2)	55 (78,6)	1–2, 1–3
Васкуляризация	85 (89,5)	102 (75,5)	67 (95,7)	2–3
Вакуольная дегенерация	23 (24,2)	128 (94,8)	44 (62,8)	1–2, 1–3, 2–3
Полиморфноклеточный инфильтрат	88 (92,6)	135 (100)	69 (98,6)	–
SIN 1	10 (10,5)	25 (18,5)	27 (38,6)	1–3, 2–3
SIN 2	12 (12,6)	20 (14,8)	21 (30)	–
SIN 3	8 (8,4)	19 (14,1)	15 (21,4)	–

**Рис. 1.** Простая лейкоплакия (микропрепарат слизистой оболочки полости рта). Гиперкератоз (А), паракератоз (Б), акантоз (В), лимфогистиоцитарная инфильтрация (Г) в дерме. Окраска гематоксилином и эозином;  $\times 100$



**Рис. 2.** Веррукозная лейкоплакия (микропрепарат слизистой оболочки вульвы). Выраженное утолщение эпидермиса, гиперкератоз (А), паракератоз (Б), акантоз с неравномерными выростами (В). Субэпидермально – полосовидный лимфогистиоцитарный инфильтрат (Г). Окраска гематоксилином и эозином;  $\times 50$



и эрозивно-язвенная лейкоплакия чаще встречались у мужчин на слизистой оболочке полости рта (48,6 и 14,9% соответственно,  $p < 0,05$ ). Установлено, что среди женщин с генитальной лейкоплакией риск развития веррукозной и эрозивно-язвенной форм в 2,27 (95% ДИ 1,47–3,51) и 1,75 раза выше (95% ДИ 1,01–3,16), чем у мужчин.

При патоморфологическом анализе исследуемого материала выявлены следующие особенности (табл. 1). Простая лейкоплакия

характеризовалась гиперкератозом (84,2%), паракератозом (82,1%), акантозом (58,9%), дискератозом (31,6%), субэпидермально – пролиферацией капилляров и васкуляризацией (89,5%) и лимфогистиоцитарной/лимфолейкоцитарной инфильтрацией (92,6%) (рис. 1). При веррукозной лейкоплакии отмечался гиперкератоз (95,5%), паракератоз (64,4%), акантоз (59,2%), вакуольная дегенерация (94,8%), экзоцитоз (65,2%) и дискератоз (47,4%), в дерме – лимфогистиоцитарный инфильтрат (100%), васкуляризация (75,5%) (рис. 2). Морфологические признаки эрозивно-язвенной лейкоплакии характеризовались паракератозом (95,7%), акантозом (84,3%), дискератозом (90%), васкуляризацией (95,7%), экзоцитозом (78,6%), субэпителиально – лимфогистиоцитарной инфильтрацией (98,6%) и васкуляризацией (95,7%) (рис. 3).

Как показал сравнительный анализ клинико-морфологических форм, гиперкератоз и вакуольная дегенерация статистически чаще регистрировались при веррукозной лейкоплакии ( $p < 0,05$ ). В свою очередь, при эрозивно-язвенной форме заболевания преобладали паракератоз, акантоз, дискератоз и васкуляризация дермы ( $p < 0,05$ ).

При анализе гистологических препаратов (см. табл. 1) выявлены диспластические изменения у 157 (52,3%) пациентов: в 62 (20,7%) случаях – лейкоплакии SIN 1, в 53 (17,7%) – SIN 2 и в 42 (14%) – SIN 3. Среди биопсийного материала ( $n = 300$ ) диспластические изменения статистически значимо чаще выявлялись при эрозивно-язвенной лейкоплакии – у 63 (90%) больных, чем при простой – у 30 (31,5%) больных – и веррукозной форме – в 64 (47,4%) случаях ( $p < 0,05$ ). Кроме того, статистически значимые различия установлены при эрозивно-язвенной лейкоплакии с признаками дисплазии SIN I (38,6%) в сравнении с простой и веррукозной формами (10,5 и 18,5% соответственно) ( $p < 0,05$ ). Выявленные особенности свидетельствуют о формировании неопластической трансформации эрозивно-язвенной лейкоплакии при начальных признаках дисплазии и прогностически более неблагоприятном течении заболевания.

Патоморфологическая картина лейкоплакии в зависимости от степени дисплазии характеризовалась следующими особенностями (табл. 2). При дисплазии SIN 1 отмечался акантоз (96,8%), гиперкератоз (95,2%), дискератоз (88,7%), клеточный полиморфизм и атипия ядер, распространяющиеся до  $\frac{1}{2}$  эпидермиса. Субэпидермально – выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация

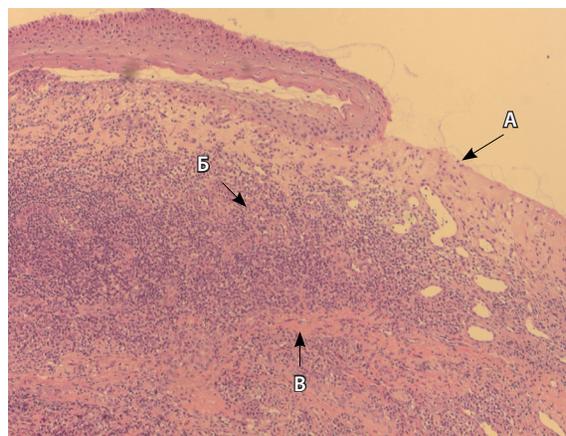
**Таблица 2.** Морфологическая характеристика лейкоплакии в зависимости от степени дисплазии (n = 157)

Патоморфологические критерии	Степень дисплазии, абс. (%)			p < 0,05
	SIN 1 (n = 62)	SIN 2 (n = 53)	SIN 3 (n = 42)	
	1	2	3	
Гиперкератоз	59 (95,2)	51 (96,2)	42 (100)	–
Паракератоз	54 (87,1)	47 (88,7)	40 (95,2)	–
Акантоз	60 (96,8)	50 (94,3)	39 (92,9)	–
Дискератоз	55 (88,7)	53 (100)	42 (100)	–
Экзоцитоз	49 (79)	51 (96,2)	40 (95,2)	–
Васкуляризация	13 (20,1)	46 (86,8)	37 (88,1)	1–2, 1–3
Вакуольная дегенерация	38 (61,3)	34 (64,2)	38 (90,5)	–
Полиморфноклеточный инфильтрат	57 (91,9)	50 (94,3)	42 (100)	–
Патологические митозы	1/3 эпидермального пласта	2/3 эпидермального пласта	3/4 эпидермального пласта	
Тельца Русселя	0	0	2 (4,8)	1–3, 2–3

(91,9%) и пролиферация капилляров дермы – в 20,1% случаев. При дисплазии SIN 2 наблюдалось распространение очагов атипии шиповатых клеток на 2/3 эпидермального пласта. В препаратах наблюдался выраженный дискератоз (100%), гиперкератоз (96,2%), экзоцитоз (96,2%) и акантоз (94,3%), в дерме – массивный полиморфноклеточный инфильтрат (94,3%) и васкуляризация (86,8%). Для дисплазии SIN 3 был типичен гиперкератоз (100%) и дискератоз клеток (100%), экзоцитоз с дистрофией клеток (95,2%), акантоз (92,9%), вакуольная дегенерация (90,5%), атипичные кератиноциты, занимающие 3/4 эпидермального пласта. Субэпидермально – массивный лимфогистиоцитарный инфильтрат (100%) и пролиферация капилляров дермы (88,1%). В нижних слоях реактивного инфильтрата наблюдались единичные тельца Русселя – в 2 (4,8%) случаях. При анализе патоморфологических критериев в зависимости от степени дисплазии установлено прогрессивное нарастание явлений дистрофии и атипии клеток в зависимости от стадии дисплазии. Наиболее выражены эти процессы были при SIN 3. Кроме того, мы отметили статистически значимые различия при оценке васкуляризации и пролиферации капилляров дермы, которые были более выражены при SIN 2 (86,8%) и SIN 3 (88,1%), чем при SIN 1 (20,1%) (p < 0,05).

## Обсуждение

По данным нашего исследования, в Пермском регионе лейкоплакия выявлялась значительно чаще у больных женского пола (77,7%). При этом преимущественно поражалась генитальная область (96,9%) с основной локализацией на слизистой вульвы (71,7%), что коррелирует с данными других авторов [2, 9, 10]. Риск поражения генитальной области у женщин оказался в 1,91 раза больше, чем у мужчин (95% ДИ 1,61–2,61). У мужчин одинаково часто встречалась оральная и аногенитальная лейкоплакия. Основной локализацией была головка полового члена (20,3%) и слизистая оболочка губ (22,9%). Риск поражения лейкоплакией



**Рис. 3.** Эрозивно-язвенная лейкоплакия (микрпрепарат слизистой оболочки шейки матки). В центре – дефект эпителия (А). В дерме – выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация (Б) и пролиферация сосудов капиллярного типа (В). Окраска гематоксилином и эозином; x 100



слизистой оболочки полости рта у мужчин был в 17 раз выше, чем у женщин (95% ДИ 8,31–34,76). Преобладание мужчин с оральной лейкоплакией отмечается во многих исследованиях [3, 7, 15, 20]. В 49,6% случаев поражается слизистая нижней губы [23]. Обычно подобную локализацию связывают с курением [13, 15].

По данным литературы, от 0,6 до 20% очагов лейкоплакии могут трансформироваться в плоскоклеточную карциному [23]. Один из важных признаков возможной трансформации – клиническая форма заболевания: высокий риск трансформации имеют веррукозная и эрозивно-язвенная [20]. В нашем исследовании веррукозная лейкоплакия встречалась в 45% случаев, при этом чаще у женщин на гениталиях (52,2%). Эрозивно-язвенная лейкоплакия одинаково часто диагностировалась у женщин с генитальной локализацией (23,9%) и у мужчин с оральной (14,9%). У трети больных диагностирована простая форма, преимущественно у мужчин с поражением слизистой полости рта и губ (48,6%).

Всемирная организация здравоохранения определяет лейкоплакию как морфологическое изменение ткани, из которого развитие карциномы более вероятно, чем из неизменной ткани [20]. Основным морфологическим компонентом, увеличивающим риск развития карциномы, признана дисплазия. У 36,4% больных оральной лейкоплакией с признаками дисплазии констатировали развитие рака, тогда как у больных лейкоплакией без признаков дисплазии рак развился только в 15,7% случаев [21]. Оценка дисплазии эпителия считается эталонным исследованием для прогнозирования злокачественной трансформации [24]. В нашем исследовании признаки дисплазии встречались в 52,3% случаев. Выявление ее у половины больных, возможно, объясняется суммацией данных по аногенитальной и оральной локализации. При оральной локализации описывали выявление дисплазии только у 8,5% больных лейкоплакией [20]. Основными морфологическими признаками дисплазии, влияющими на риск трансформации, являются атипичные митозы, нарушение процессов ороговения, гиперхроматизм, увеличение количества ядрышек [24]. В нашем исследовании мы отметили аналогичные изменения. Более того, по мере увеличения степени дисплазии значительно возрастало количество подобных клеток. Так, при SIN 1 атипичные митозы, клетки с гиперхромными ядрами и увеличенным количеством ядрышек наблюдали в нижних отделах эпидермиса, при SIN 2 – на  $\frac{2}{3}$ , а при SIN 3 – на

$\frac{3}{4}$  его толщины. Наличие дисплазии и ее характер зависели от клинической формы заболевания. При эрозивно-язвенной форме 90% случаев имели признаки дисплазии, тогда как при простой и веррукозной – только 31,6 и 47,4% случаев соответственно. При всех клинических формах несколько преобладала SIN 1. В целом соотношение степеней дисплазии было одинаковым. Тем не менее настороженность в отношении трансформации должна присутствовать во всех случаях дисплазии, так как ее степень не всегда пропорциональна риску трансформации в карциному [22]. Выявленные нами клиничко-морфологические корреляции клиничко-морфологических форм лейкоплакии соответствуют мнению большинства исследователей о том, что только совместная оценка клинических и морфологических данных улучшает прогнозирование риска трансформации.

## Заключение

В Перми и Пермском крае лейкоплакия чаще встречалась у женщин (77,7%) пожилого возраста ( $61,6 \pm 3,5$ ) с преимущественной локализацией на слизистой оболочке вульвы (71,7%). У мужчин с одинаковой частотой поражалась слизистая полости рта и гениталий, доминирующей локализацией была слизистая оболочка губ и головки полового члена (22,9 и 20,3% соответственно). Установлен высокий риск возникновения лейкоплакии генитальной локализации у женщин и оральной у мужчин (в 1,91 и в 17 раз соответственно).

При оценке клиничко-морфологической картины заболевания выявлено, что веррукозная форма встречалась в 45% случаев, простая – в 31,7%, а эрозивно-язвенная – в 23,3%. Показана высокая вероятность возникновения веррукозной и эрозивно-язвенной лейкоплакии на гениталиях у женщин (52,2 и 23,9% соответственно); простой (48,6%) и эрозивно-язвенной формы (14,9%) у мужчин оральной локализации. Риск развития веррукозной и эрозивно-язвенной лейкоплакии у женщин на гениталиях превысил таковую у мужчин в 2,27 и 1,75 раза соответственно.

Дисплазия различной выраженности наблюдалась в 90% случаев эрозивно-язвенной лейкоплакии, при этом при простой и веррукозной формах ее диагностировали в 31,5 и 47,4% случаев соответственно. Частота диспластических признаков возрастала в зависимости от степени дисплазии. При всех клинических формах несколько преобладала SIN 1, соотношение степеней дисплазии было одинаковым. ©

### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.



## Литература

- Abidullah M, Kiran G, Gaddikeri K, Raghaji S, Ravishankar TS. Leuloplakia – review of a potentially malignant disorder. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(8):ZE01–4. doi: 10.7860/JCDR/2014/10214.4677.
- Rogovskaya SI, Bebnava TN. Лейкоплакия шейки матки, влагалища и вульвы. Современные аспекты. *Доктор.Ру.* 2014;(1):51–5.
- Рабинович ОФ, Абрамова ЕС, Тогонидзе АА. Клиника, диагностика и лечение различных форм лейкоплакии. *Стоматология.* 2014;93(5):75–81.
- Михальченко АВ, Медведева ЕА, Михальченко ДВ. Особенности структуры заболеваний слизистой оболочки полости рта у жителей Волгограда и Волгоградской области. *Волгоградский научно-медицинский журнал.* 2016;(1):3–7.
- Харитоновна МП, Халилаева ЕВ, Юрьева ЛИ. Особенности структуры заболеваемости слизистой оболочки полости рта у жителей Свердловской области. *Маэстро стоматологии.* 2012;(2):4–7.
- Lyu MY, Guo YS, Li S, Yang D, Hua H. Hospital-based epidemiological and clinical characterisation of the malignant transformation of oral leukoplakia in a Chinese population. *Int Dent J.* 2017;67(4):252–9. doi: 10.1111/ijdj.12292.
- Гилева ОС, Либик ТВ, Позднякова АА, Сатюкова ЛЯ. Предраковые заболевания в структуре патологии слизистой оболочки полости рта. *Вестник стоматологии.* 2012;(2):3–9.
- Гажва СИ, Степанян ТБ, Горячева ТП. Распространенность стоматологических заболеваний слизистой оболочки полости рта и их диагностика. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2014;(5–1):41–4 [Интернет]. Доступно на: URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=5273>.
- Пушкарев ВА, Мазитов ИМ, Хуснутдинов ШМ, Голов ЕК. Анализ клинико-патологических особенностей рака вульвы. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2014;9(3):50–4.
- Макаров ИО, Чулкова ЕА, Шешукова НА, Макарова ИИ. Неопухольевые заболевания вульвы. *Акушерство, гинекология, репродуктология.* 2012;6(2):14–7.
- Степанова РН, Коломеец ЕВ, Тарасова ЛП. Фоновые заболевания, предрак и рак шейки матки у беременных женщин. *Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки.* 2011;(3):275–81.
- Bhargava A, Shakeel M, Srivastava AN, Raza TS, Rizvi S, Varshney P. Role of human papilloma virus in oral leukoplakia. *Indian J Cancer.* 2016;53(1):206–9. doi: 10.4103/0019-509X.180812.
- Granero Fernandez M, Lopez-Jornet P. Association between smoking, glycaemia, blood lipoproteins and risk of oral leukoplakia. *Aust Dent J.* 2017;62(1):47–51. doi: 10.1111/adj.12431.
- Латышева СВ, Будевская ТВ. Клинические аспекты лейкоплакии слизистой оболочки полости рта. *Современная стоматология.* 2013;(1):28–31.
- Hashibe M, Mathew B, Kuruville B, Thomas G, Sankaranarayanan R, Parkin DM, Zhang ZF. Chewing tobacco, alcohol, and the risk of erythroplakia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9(7):639–45.
- Wurapa AK, Luque AE, Menegus MA. Oral hairy leukoplakia: a manifestation of primary infection with Epstein Barr virus? *Scand J Infect Dis.* 1999;31(5):505–6.
- Трофимова ИБ, Глебова ЛИ. Эрозивная форма лейкоплакии слизистой оболочки полости рта – редкий вид предрака. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2008;(1):73–4.
- Shklar GS. Oral leukoplakia. *N Engl J Med.* 1986;315(24):1544–6. doi: 10.1056/NEJM198612113152408.
- Dorey JL, Blasberg B, Conklin RJ, Carmichael RP. Oral leukoplakia. Current concepts in diagnosis, management, and malignant potential. *Int J Dermatol.* 1984;23(10):638–42. doi: 10.1111/j.1365-4362.1984.tb01221.x.
- Warnakulasuriya S. Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. *J Pathol.* 2001;194(3):294–7. doi: 10.1002/1096-9896(200107)194:3<294::AID-PATH911>3.0.CO;2-Q.
- Silverman S Jr, Gorsky M, Kaugars GE. Leukoplakia, dysplasia, and malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(2):117. doi: 10.1016/S1079-2104(96)80209-5.
- Lumerman H, Freedman P, Kerpel S. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(3):321–9. doi: 10.1016/S1079-2104(05)80226-4.
- Müller S. Oral lichenoid lesions: distinguishing the benign from the deadly. *Mod Pathol.* 2017;30(s1):S54–67. doi: 10.1038/modpathol.2016.121.
- Tilakaratne WM, Sherriff M, Morgan PR, Odell EW. Grading oral epithelial dysplasia: analysis of individual features. *J Oral Pathol Med.* 2011;40(7):533–40. doi: 10.1111/j.1600-0714.2011.01033.x.
- Pushkarev VA, Mazitov IM, Khusnutdinov ShM, Golov EK. Analysis of clinical and pathological features of vulvar cancer. *Bashkortostan Medical Journal.* 2014;9(3):50–4. Russian.
- Makarov IO, Chulkova EA, Sheshukova NA, Makarova II. Not tumoral diseases of vulva. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2012;6(2):14–7. Russian.
- Stepanova RN, Kolomeets EV, Tarasova LP. Facultative diseases, precancerous condition and cancer of the cervix uteri at pregnant women. *Scientific Notes of Orel State University. Series "Natural, technical and medical sciences".* 2011;(3):275–81. Russian.
- Bhargava A, Shakeel M, Srivastava AN, Raza TS, Rizvi S, Varshney P. Role of human papilloma virus in oral leukoplakia. *Indian J Cancer.* 2016;53(1):206–9. doi: 10.4103/0019-509X.180812.

## References

- Abidullah M, Kiran G, Gaddikeri K, Raghaji S, Ravishankar TS. Leuloplakia – review of a potentially malignant disorder. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(8):ZE01–4. doi: 10.7860/JCDR/2014/10214.4677.
- Rogovskaya SI, Bebnava TN. Leukoplakia of cervix, vagina, and vulva: current insights. *Doctor.Ru.* 2014;(1):51–5. Russian.
- Rabinovich OF, Abramova ES, Togonidze AA. Clinic, diagnostic and treatment of various forms of a leukoplakia. *Stomatologiya.* 2014;93(5):75–81. Russian.
- Mikhailchenko AV, Medvedeva EA, Mikhailchenko DV. Structural features of oral mucosa diseases in residents of Volgograd and the Volgograd region. *Volgograd Journal of Medical Research.* 2016;(1):3–7. Russian.
- Kharitonova MP, Khalilaeva EV, Yur'eva LI. Specifics of the oral mucosa morbidity structure in the population of the Sverdlovsk region. *E-Stomatology.* 2012;(2):4–7. Russian.
- Lyu MY, Guo YS, Li S, Yang D, Hua H. Hospital-based epidemiological and clinical characterisation of the malignant transformation of oral leukoplakia in a Chinese population. *Int Dent J.* 2017;67(4):252–9. doi: 10.1111/ijdj.12292.
- Gileva OS, Libik TV, Pozdnyakova AA, Satyukova LY. Precancerous lesions in structure of oral mucosa diseases (according to medical advisory data). *Actual Problems of Stomatology.* 2012;(2):3–9. Russian.
- Gazhva SI, Stepanyan TB, Goryacheva TP. Prevalence of dental disease of oral mucosa and their diagnosis. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2014;(5–1):41–4 [Internet]. Available from: URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=5273>. Russian.
- Pushkarev VA, Mazitov IM, Khusnutdinov ShM, Golov EK. Analysis of clinical and pathological features of vulvar cancer. *Bashkortostan Medical Journal.* 2014;9(3):50–4. Russian.
- Makarov IO, Chulkova EA, Sheshukova NA, Makarova II. Not tumoral diseases of vulva. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2012;6(2):14–7. Russian.
- Stepanova RN, Kolomeets EV, Tarasova LP. Facultative diseases, precancerous condition and cancer of the cervix uteri at pregnant women. *Scientific Notes of Orel State University. Series "Natural, technical and medical sciences".* 2011;(3):275–81. Russian.
- Bhargava A, Shakeel M, Srivastava AN, Raza TS, Rizvi S, Varshney P. Role of human papilloma virus in oral leukoplakia. *Indian J Cancer.* 2016;53(1):206–9. doi: 10.4103/0019-509X.180812.



13. Granero Fernandez M, Lopez-Jornet P. Association between smoking, glycaemia, blood lipoproteins and risk of oral leukoplakia. *Aust Dent J*. 2017;62(1):47–51. doi: 10.1111/adj.12431.
14. Latysheva SV, Budevskaya TV. Clinical aspects of the oral mucosal leukoplakia. *Sovremennaya stomatologiya*. 2013;(1):28–31. Russian.
15. Hashibe M, Mathew B, Kuruvilla B, Thomas G, Sankaranarayanan R, Parkin DM, Zhang ZF. Chewing tobacco, alcohol, and the risk of erythroplakia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9(7):639–45.
16. Wurapa AK, Luque AE, Menegus MA. Oral hairy leukoplakia: a manifestation of primary infection with Epstein Barr virus? *Scand J Infect Dis*. 1999;31(5):505–6.
17. Trofimova IB, Glebova LI. Erosive form of tunica mucosa of mouth as a rare type of the pre-cancerous condition. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2008;(1):73–4. Russian.
18. Shklar GS. Oral leukoplakia. *N Engl J Med*. 1986;315(24):1544–6. doi: 10.1056/NEJM198612113152408.
19. Dorey JL, Blasberg B, Conklin RJ, Carmichael RP. Oral leukoplakia. Current concepts in diagnosis, management, and malignant potential. *Int J Dermatol*. 1984;23(10):638–42. doi: 10.1111/j.1365-4362.1984.tb01221.x.
20. Warnakulasuriya S. Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. *J Pathol*. 2001;194(3):294–7. doi: 10.1002/1096-9896(200107)194:3<294::AID-PATH911>3.0.CO;2-Q.
21. Silverman S Jr, Gorsky M, Kaugars GE. Leukoplakia, dysplasia, and malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996;82(2):117. doi: 10.1016/S1079-2104(96)80209-5.
22. Lumerman H, Freedman P, Kerpel S. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1995;79(3):321–9. doi: 10.1016/S1079-2104(05)80226-4.
23. Müller S. Oral lichenoid lesions: distinguishing the benign from the deadly. *Mod Pathol*. 2017;30(s1):S54–67. doi: 10.1038/modpathol.2016.121.
24. Tilakaratne WM, Sherriff M, Morgan PR, Odell EW. Grading oral epithelial dysplasia: analysis of individual features. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(7):533–40. doi: 10.1111/j.1600-0714.2011.01033.x.

## Clinical and morphological features of the leukoplakia in the Perm region

T.G. Sedova<sup>1</sup> • A.N. Khlebnikova<sup>2</sup>

Leukoplakia is a chronic precancerous skin and mucosal lesion with a multifactorial etiology. **Aim:** To retrospectively analyze clinical and morphological characteristics of leukoplakia in the Perm region. **Materials and methods:** The study was based on the data extracted from out- and in-patient medical files and biopsy samples of 332 patients referred to the Perm Regional Oncological Dispensary (Perm, Russian Federation) in 2005 to 2016. The analysis of clinical and morphological characteristics was carried out with consideration of anatomical localization, gender and histopathological findings. **Results:** Among the patients with leukoplakia, there were mostly women (77.7%) of the older age ( $61.6 \pm 3.5$  years), with frequent lesions of the vulvar mucosa (71.7%). Men had similar prevalence of genital (47.3%) and oral (52.7%) leukoplakia. Simple (flat) leukoplakia was found in 31.7% of the cases, verrucous in 45.0%, and erosive/ulcerative in 23.3%. Verrucous leukoplakia was more often characterized by hyperkeratosis (95.5%) and vacuolar degeneration (94.8%). The erosive/ulcerative type was characterized by parakeratosis (95.7%), acanthosis (84.3%), dyskeratosis (90.0%), and dermal vascularization (95.7%).

Dysplasia was observed in 52.3% of the cases, with 90% in erosive/ulcerative leukoplakia, 31.5% in simple leukoplakia and 47.4% in verrucous type. The frequency of dysplasia signs increased with an increase of the dysplasia grade (SIN). **Conclusion:** In the Perm region, leukoplakia was more prevalent in female patients and had predominantly genital localization (96.9%). The risk of verrucous and erosive/ulcerative genital leukoplakia in women was 2.27- and 1.75-fold higher than in men, respectively. In all clinical types, there was a slight predominance of SIN1, whereas the ratio of dysplasia grades was similar. Only combined assessment of clinical and morphological data could improve prediction of transformation to cancer.

**Key words:** leukoplakia, clinic, pathology, dysplasia

**For citation:** Sedova TG, Khlebnikova AN. Clinical and morphological features of the leukoplakia in the Perm region. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):347–54. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-347-354.

Received 22 May 2018; accepted 13 September 2018

**Tat'yana G. Sedova** – MD, PhD, Associate Professor, Chair of Dermatology and Venereology<sup>1</sup>  
 ✉ 26 Petropavlovskaya ul., Perm, 614990, Russian Federation. Tel.: +7 (908) 249 91 99.  
 E-mail: sedovca-1978@yandex.ru

**Al'bina N. Khlebnikova** – MD, PhD, Professor, Chair of Dermatovenereology and Dermatocology, Postgraduate Training Faculty<sup>2</sup>

### Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest.

<sup>1</sup> Perm State Medical Academy named after academician E.A. Vagner; 26 Petropavlovskaya ul., Perm, 614990, Russian Federation

<sup>2</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Оригинальная статья

# Гендерные особенности морфологических фенотипов миокарда ушка правого предсердия у больных хронической сердечной недостаточностью, перенесших открытую операцию на сердце

Лискова Ю.В.<sup>1,2</sup> • Стадников А.А.<sup>1</sup> • Саликова С.П.<sup>2</sup>

**Актуальность.** На протяжении многих десятилетий у женщин во всех возрастных группах при кардиальных вмешательствах наблюдается высокий риск летальности и периоперационных осложнений, причина которых до настоящего времени полностью не ясна. Дооперационное прогнозирование сердечно-сосудистых осложнений (ССО), основанное только на клинических и инструментальных критериях без учета половой принадлежности, также остается безуспешным. Существует мнение, что значимое влияние на состояние пациента после кардиохирургического лечения оказывают структурно-функциональные изменения миокарда, имеющиеся до операции. **Цель** – выявить морфологические и молекулярные предикторы неблагоприятного прогноза у пациентов обоего пола с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) после кардиохирургических операций (КХО). **Материал и методы.** В исследование включены 87 пациентов обоего пола с ХСН, направленных на плановое кардиохирургическое лечение. До операции всем проводилось стандартное обследование и лечение ХСН и сопутствующей патологии. Миокард резецированного в ходе КХО ушка правого предсердия (УПП) изучен общегистологическими, иммуногистохимическими (ИГХ) (экспрессия caspase-3, bcl-2, MMP-2, TIMP-1, p38α, CD-34) и морфометрическими методами. У всех обследуемых на 10–14-е сутки

после КХО оценивали наличие ССО. Изучали взаимосвязь между развитием ССО и морфологическими изменениями в миокарде УПП до операции с учетом половой принадлежности. **Результаты.** В группе мужчин/женщин с неблагоприятным течением послеоперационного периода по сравнению с благоприятным в миокарде УПП определялось статистически значимое снижение диаметра кардиомиоцитов (КМЦ) –  $13,26 \pm 3,14$  ( $p < 0,01$ ) /  $13,99 \pm 3,64$  ( $p < 0,01$ ) мкм, объемной плотности (ОП) КМЦ –  $55,4 \pm 9,45$  ( $p < 0,01$ ) /  $51,22 \pm 10,12$  ( $p < 0,01$ ) об. %, трофического индекса –  $0,24 \pm 0,1$  ( $p < 0,01$ ) /  $0,21 \pm 0,06$  ( $p < 0,01$ ), при этом наблюдалось существенное увеличение ОП стромы –  $44,91 \pm 9,23$  ( $p < 0,01$ ) /  $47,78 \pm 10,12$  ( $p < 0,01$ ) об. % и индекса Керногана –  $1,78 \pm 0,49$  ( $p < 0,01$ ) /  $1,43 \pm 0,64$  ( $p = 0,143$ ). ИГХ анализ миокарда УПП показал, что в группе мужчин/женщин с неблагоприятным течением послеоперационного периода по сравнению с группами с благоприятным течением установлено увеличение количества caspase-3 (+) КМЦ –  $3,9 \pm 0,46$  ( $p < 0,01$ ) /  $3,34 \pm 0,4$  ( $p < 0,01$ ) %, увеличение активности +/+/+++ p38α –  $3/30/69$  ( $p < 0,01$ ) /  $2/39/60$  ( $p < 0,01$ ) %, экспрессии MMP-2 –  $2/56/43$  ( $p < 0,01$ ) /  $0/68/31$  ( $p < 0,01$ ) %, при этом отмечено снижение экспрессии TIMP-1 –  $19/29/52$  ( $p < 0,01$ ) /  $8/24/67$  ( $p < 0,01$ ) % и ОП CD-34 клеток стромы –  $18,46 \pm 8,5$  ( $p < 0,01$ ) /  $27,54 \pm 5,88$  ( $p < 0,01$ ) %.

**Заключение.** Установлена роль caspase-3, MMP-2, CD-34 в миокарде УПП как прогностических маркеров ССО в раннем послеоперационном периоде. Показаны половые различия в модуляции апоптотических путей и неэффективность антиапоптотических механизмов в миокарде УПП. На основе изучения реорганизации миокарда УПП сформирована интегральная прогностическая картина структурно-функциональных изменений миокарда, что делает возможным выделение особой когорты пациентов с исключительно высоким риском развития неблагоприятного течения послеоперационного периода КХО.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистые осложнения, ремоделирование миокарда, половые особенности, иммуногистохимия, кардиохирургическая операция

**Для цитирования:** Лискова ЮВ, Стадников АА, Саликова СП. Гендерные особенности морфологических фенотипов миокарда ушка правого предсердия у больных хронической сердечной недостаточностью, перенесших открытую операцию на сердце. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):355–66. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-355-366.

Поступила 03.04.2018;  
принята к публикации 13.09.2018



**Лискова Юлия**

**Владимировна** – канд. мед. наук, ассистент кафедры внутренних болезней<sup>1</sup>; докторант 2-й кафедры (терапии усовершенствования врачей)<sup>2</sup>

✉ 460001, г. Оренбург, ул. Туркестанская, 53–27, Российская Федерация. Тел.: +7 (912) 846 86 46. E-mail: liskovaj@bk.ru

**Стадников Александр**

**Абрамович** – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии<sup>1</sup>

**Саликова Светлана**

**Петровна** – д-р мед. наук, доцент 2-й кафедры (терапии усовершенствования врачей)<sup>2</sup>

**Р**езультаты исследований последних лет показали, что пол играет значимую роль в ремоделировании миокарда – в ответ на негативные факторы (некроз, перегрузка давлением и/или объемом, старение) происходят молекулярные и клеточные изменения, влияющие на форму, размер и функцию сердечных полостей [1]. Считается, что процесс ремоделирования сердца более благоприятный у женщин независимо от возраста, чем у мужчин. У женщин чаще развиваются концентрический тип ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) и сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса (ФВ) [2]. Ряд исследователей это связывают с эффектами половых гормонов (эстрогенов и тестостерона), опосредованными через эстрогеновые (ER/ER $\beta$ ) и андрогенные рецепторы, которые обнаружены в кардиомиоцитах (КМЦ), фибробластах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках миокарда [3]. Пол признан важной детерминантой гипертрофии КМЦ и апоптоза [4, 5]. В клиническом исследовании D.L. Crabbe и соавт. [6] получены результаты, согласующиеся с данными экспериментальных работ и показавшие меньшую постинфарктную гипертрофию ЛЖ у женщин в сравнении с мужчинами. X.P. Zhang и соавт. [7] выявили четырехкратное увеличение индекса апоптоза в миокарде без увеличения регенераторного потенциала КМЦ (экспрессия Ki-67) у старых обезьян-самцов в отличие от самок. При анализе морфологических изменений перинфарктной области выявлены различия в модуляции апоптотических путей в зависимости от пола. Как показали G.G. Biondi-Zoccai и соавт. [8], у мужчин, умерших после инфаркта миокарда, скорость апоптоза в перинфарктной зоне была в 10 раз выше, чем у женщин, при этом регистрировалась высокая экспрессия Вах. В работе P. Lista и соавт. [9] установлено, что у женщин именно эстрогены предотвращают потерю миокардиальной массы, влияя на механизмы аутофагии, уменьшая сердечную атрофию.

Потеря объема сократительного миокарда играет критическую роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН). Согласно данным ряда исследователей, с возрастом у мужчин увеличивается размер КМЦ и значительно снижается их количество, тогда как у женщин число и размер КМЦ сохраняются [3, 10]. Данный факт связывают с теломеразной активностью в КМЦ, значительно различающейся у мужчин и женщин на протяжении всей жизни. Кроме того, существенное укорочение теломер происходит у пациентов с терминальной стадией

ХСН [11]. Теломеразная активность определяется в КМЦ молодых людей, уменьшаясь с возрастом у мужчин, но сохраняясь высокой у женщин [12]. Эти данные подчеркивают половые различия в жизнеспособности и репликации ДНК в КМЦ.

Многочисленные исследования свидетельствуют о значительных половых различиях в патофизиологических механизмах развития миокардиального фиброза [13–15]. В биоптатах миокарда пациентов, которым выполнялось протезирование аортального клапана, выявлена высокая экспрессия коллагена I, III типа и матриксной металлопротеиназы 2-го типа (ММП-2) у мужчин в отличие от женщин [15]. Высокая активность ММП-2 имеет определяющее значение в неблагоприятном ремоделировании миокарда [15, 16]. Показано, что эстрогены модулируют экспрессию ММП-2 через сигнальные пути митоген-активированных протеинкиназ (МАРК) [17]. Действуя через классические геномные механизмы, эстрогены влияют на поддержание баланса между активными/неактивными МАРК, участвующими в развитии гипертрофии миокарда, ишемии/реперфузионном повреждении сердца и апоптозе КМЦ [17]. Активация эстрогенов фосфатидилинозитол-3-киназы ингибирует в митохондриях образование активных форм кислорода, влияя на выживаемость КМЦ [18, 19].

Как известно, подавляющее большинство женщин с ХСН находятся в постменопаузе, когда наблюдается снижение в крови уровня циркулирующих эстрогенов. Вместе с тем есть данные, указывающие на локальную внутримышечную секрецию эстрогенов, не зависящую от циклического синтеза эстрогенов яичниками, функция которых угасает в постменопаузе [20]. J.L. Novotny и соавт. [21] в эксперименте на старых крысах-самках впервые показали, что активация негеномных механизмов через ER $\alpha$  оказывает кардиопротективное действие, значимо уменьшая в сердце ишемически-реперфузионное повреждение и гибель клеток путем некроза/апоптоза. Вероятно, у женщин в постменопаузе происходит активация негеномных механизмов ER $\alpha$ / $\beta$ , что делает объяснимыми половые различия в ремоделировании миокарда. Помимо классического пути активации эстрогенов существует и лиганднезависимая активация (инсулином, некоторыми факторами роста и др.), что также приводит к реализации кардиопротективных эффектов эстрогенов [3].

Таким образом, многочисленные работы свидетельствуют о явных половых различиях, начиная от факторов риска и до уровня молекулярных

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России; 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России; 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6Ж, Российская Федерация



регуляторных механизмов развития сердечно-сосудистых заболеваний и ХСН. Связаны ли особенности реорганизации миокарда только с эффектами половых гормонов или формируются под действием других механизмов, остается до конца не изученным. Однако несмотря на более благоприятное ремоделирование миокарда, женский пол входит в шкалу EuroScore II как один из факторов риска кардиохирургических операций (КХО) [22, 23]. Возможно, причина меньшей успешности КХО у женщин связана с особенностями функциональной морфологии миокарда, которая более объективно отражает выраженность патологических процессов в сердце, чем функциональный класс (ФК) стенокардии или ХСН, но остается малоизученной в гендерном аспекте. В связи с этим целью настоящего исследования стало выявление возможных морфологических и молекулярных предикторов сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у пациентов обоего пола в послеоперационном периоде после КХО.

## Материал и методы

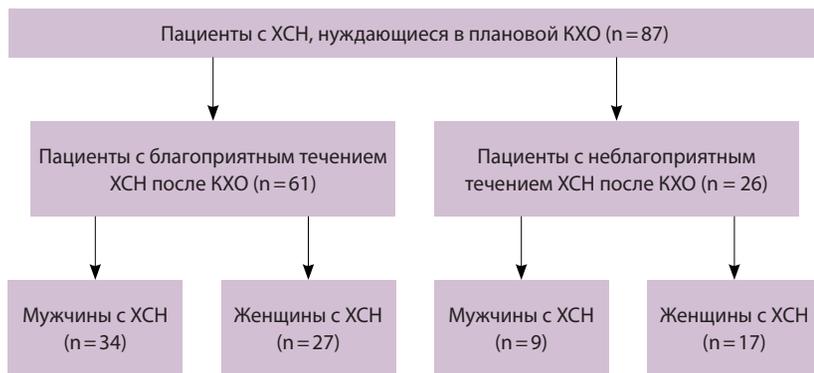
В протокол исследования включены 87 пациентов (43 мужчины и 44 женщины), госпитализированных в кардиохирургическое отделение ГБУЗ «Оренбургская областная клиническая больница» (г. Оренбург) в период с сентября 2013 по октябрь 2014 г. для проведения плановой КХО (коронарное шунтирование или протезирование клапанных пороков). Критерием включения пациента в исследование было наличие признаков ХСН I–III ФК по NYHA. При определении диагноза ХСН использовали клинические критерии согласно Рекомендациям ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности [24]. Оценка ФК ХСН проводилась по NYHA, стадии – соответственно классификации Стражеско – Василенко [25]. Причинами ХСН у большинства пациентов были ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертония, приобретенные клапанные пороки сердца или их сочетание. Всем пациентам до КХО проводился физикальный осмотр, тест с шестиминутной ходьбой, оценка клинического состояния по соответствующей шкале в модификации В.Ю. Мареева, эхокардиографическое исследование в одномерном, двухмерном и доплеровском режимах на аппарате Acuson 128X10 (Япония), стандартное лабораторно-инструментальное обследование.

Материал для морфологического исследования был получен из резецированного ушка

правого предсердия (УПП) – выполнялось на этапе подключения аппарата искусственного кровообращения. Материал изучали при помощи общегистологических, иммуногистохимических (ИГХ) (оценка экспрессии синтеза белков caspase-3, bcl-2, MMP-2, TIMP-1, p38α-митоген-активируемой протеинкиназы (p38α) и CD-34 с использованием моноклональных антител и набора реактивов Spring Bioscience и Sigma-Aldrich, США) и морфометрических методов. Морфометрия осуществлялась в соответствии со сложившимися принципами системного количественного анализа [26] с применением программы ImageJ 1.48v (США). Для определения объемной плотности (ОП) структур миокарда, в том числе ОП клеток, экспрессирующих маркер ангиогенеза CD-34, применялось наложение квадратной сетки (Pt=225) на микрофотографии гистологических срезов миокарда при стандартном увеличении в 400 раз. Экспрессию caspase-3, bcl-2 определяли как число окрашенных КМЦ, деленное на 100 клеток в случайно выбранных 20 полях зрения. Оценку локализации и интенсивности иммунной реакции MMP-2, TIMP-1 и p38α проводили полуколичественным методом +/-+++ в 20 случайно выбранных полях зрения (100%) под микровизором mVizo-101.

Все пациенты получали стандартную терапию основного и сопутствующих заболеваний согласно рекомендациям профессиональных сообществ [25, 26]. В зависимости от характера течения ХСН в госпитальный период после КХО (10–14-е сутки) были выделены две группы. В 1-ю группу вошел 61 пациент (34 мужчины и 27 женщин) без ССО. Вторую группу составили 26 пациентов (9 мужчин и 17 женщин) с ССО (рис. 1). К ССО относили: инфаркт миокарда, нарушение ритма и проводимости, острую сердечную недостаточность, летальный исход. Изучали взаимосвязи морфологических изменений в миокарде УПП с учетом пола и послеоперационных ССО. В исследование не включались пациенты с сопутствующими острыми воспалительными, инфекционными, онкологическими, иммунокомплексными заболеваниями и хроническими заболеваниями в стадии обострения.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России (протокол № 106 от 17.09.2013).



**Рис. 1.** Дизайн проспективного исследования; ХСН – хроническая сердечная недостаточность, КХО – кардиохирургическая операция

При статистической обработке полученных результатов проверка нормальности распределения данных проводилась с использованием критерия Колмогорова – Смирнова (при числе исследуемых  $(n) > 50$ ) или критерия Шапиро – Уилка (при  $n < 50$ ). Количественные признаки представлены в виде среднего значения ( $M$ ) и стандартного отклонения ( $\sigma$ ). Для оценки статистической значимости различий между опытными и контрольными группами в случае нормального распределения количественных данных использовали  $t$ -критерий Стьюдента для несвязанных совокупностей, в других случаях – непараметрический  $U$ -критерий Манна – Уитни. В случае альтернативных признаков определяли долю объектов в выборке, обладающих этим признаком. Доли различных выборок сравнивали друг с другом посредством критерия хи-квадрат Пирсона

**Таблица 1.** Варианты сердечно-сосудистых осложнений, зафиксированные у пациентов в послеоперационном периоде, абс. (%)

Осложнение	Мужчины (n=43)	Женщины (n=44)	Всего (n=87)
Пароксизмальная форма фибрилляции предсердий	7 (16,3)	13 (29,6)	20 (23)
Пароксизм фибрилляции желудочков	0	1 (2,3)	1 (1,2)
Развитие полной атриовентрикулярной блокады, потребовавшее установку электрокардиостимулятора	1 (2,3)	1 (2,3)	2 (2,3)
Инфаркт миокарда	0	1 (2,3)	1 (1,2)
Тампонада сердца	1 (2,3)	1 (2,3)	2 (2,3)
Летальный исход	1 (2,3)	0	1 (1,2)
Всего пациентов с сердечно-сосудистыми осложнениями	9 (20,9)	17 (38,6)	26 (29,9)

с поправкой на непрерывность Йейтса. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости  $p$  принимался равным 0,05.

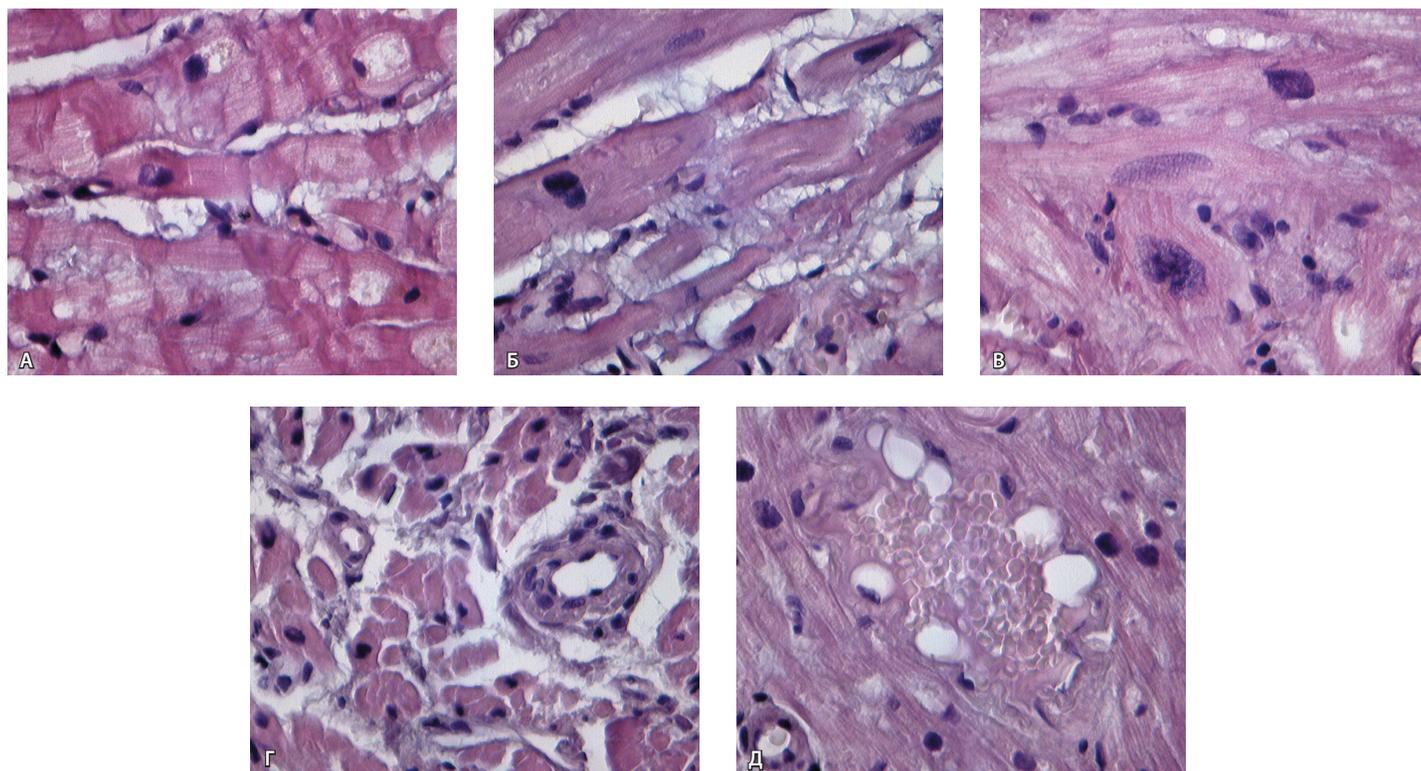
## Результаты

При анализе клиничко-анамнестических показателей пациентов, участвующих в исследовании, установлено, что женщины были старше мужчин –  $61,27 \pm 8,1$  против  $57,18 \pm 7,58$  года ( $p < 0,05$ ), реже имели в анамнезе инфаркт миокарда, чаще – приобретенные клапанные пороки сердца и более тяжелое течение ХСН, что подробно представлено в нашей предыдущей публикации [27]. У всех обследованных наблюдались нарушения геометрической адаптации сердца с преобладанием эксцентрического типа ремоделирования ЛЖ в группе мужчин и I-го типа диастолической дисфункции у обоого пола. Необходимо отметить, что 81% пациентов, включенных в исследование, имели сердечную недостаточность с сохраненной фракцией выброса (ФВ  $> 50\%$ ) и 19% – среднюю фракцию выброса (ФВ = 40–49%).

За время нахождения в стационаре в послеоперационном периоде (10–14 дней) частота развития ССО у мужчин составила 20,9%, у женщин – 38,6% (у 9 мужчин и 17 женщин соответственно). Варианты ССО отражены в табл. 1.

Совокупность гистологических изменений миокарда, их анализ и обобщение свидетельствовали о существенных структурных изменениях сердечной мышцы у пациентов, подвергнутых КХО. Следует отметить, что в большинстве случаев были выявлены следующие морфологические изменения миокарда УПП: мелкие очаги некробиоза, конденсация гетерохроматина ядер КМЦ и сегрегация их ядрышек, глубокие инвагинации кардиолеоммы сердечных миоцитов, дисконкомплексация миофибрилл и их фрагментация, локальные пересокращения сердечных мышечных волокон, формирование локальных очагов интерстициального фиброза на месте разрушенных КМЦ (рис. 2).

Вместе с тем характер и выраженность структурно-функциональных изменений в миокарде имели отличительные половые особенности. Так, в миокарде женщин наблюдался более выраженный гетероморфизм КМЦ с изменением размеров как диаметра, так и их ядер, часть из них характеризовалась повышенной оксифильностью (эозинофильностью). Встречались участки гипертрофированных КМЦ, представленные одно- и двуядерными клетками (рис. 2 А–В). Наличие крупных (диаметром 14,9–16,7 мкм) ядер указывает на их полиплоидизацию, что может



**Рис. 2.** Фрагмент миокарда ушка правого предсердия: **А** – полосы пересокращения кардиомиоцитов (КМЦ) располагаются преимущественно около вставочных дисков; **Б** – двуядерный гипертрофированный КМЦ, отек стромы миокарда; **В** – гипертрофированные дву- и одноядерные КМЦ; **Г** – артериола с признаками гипертрофии (утолщенная стенка средней оболочки); **Д** – сладж-синдром в синусоиде. Окраска гематоксилином Майера и эозином;  $\times 400$

трактоваться как способ реализации компенсаторных возможностей миокарда. Двуядерные КМЦ чаще встречались у мужчин, ядра нередко имели разный диаметр, признаки гипертрофии цитоплазмы, что говорит об активации адаптивных процессов в КМЦ.

Стромальный компонент миокарда у пациентов обоего пола характеризовался участками отека различной степени выраженности, нередко встречающейся воспалительной инфильтрацией, представленной лейкоцитами, макрофагами и диапедезом эритроцитов вокруг сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) (рис. 2 Б, Г, Д). Вероятно, в условиях ишемии и гипоксии, когда происходит гибель клеток миокарда, в эти зоны привлекаются клетки, организующие «поле» воспаления. Наблюдались участки мелкоочагового и крупноочагового кардиосклероза. Необходимо отметить, что в миокарде женщин сосуды имели меньший диаметр, большую толщину средней оболочки, чаще наблюдались спазмированные кровеносные сосуды (рис. 2 Г). Сосуды Вьессена – Тебезия также имели меньший диаметр у женщин, чаще встречались узкие щелевидные синусоиды и очень редко регистрировались подобные

сосуды с расширенным просветом. Синусоидные сосуды у мужчин имели больший диаметр, чаще были расширены. В них нередко отмечался сладж эритроцитов (рис. 2 Д). Поскольку сосуды Вьессена – Тебезия являются анастомозами между большим и малым кругами кровообращения, их расширение, вероятно, свидетельствует о перегрузке и застое крови.

Встречались обширные зоны миокарда, характеризующиеся КМЦ с вакуолизацией цитоплазмы. Как известно, вакуолярная дистрофия в миокарде чаще носит гидропический или жировой характер и свидетельствует о выраженной гипоксии ткани миокарда. Вакуолярная дистрофия и появление адипоцитов в интерстиции миокарда встречались реже у женщин, чем у мужчин. Однако у женщин чаще отмечались участки гиалиноза соединительнотканых волокон, что указывает на выраженную дезорганизацию внеклеточного матрикса миокарда и повышенную проницаемость сосудов МЦР.

Сравнительный анализ данных морфометрии миокарда и ИГХ показателей УПП установил значимые различия в группах в зависимости от пола и характера течения послеоперационного

**Таблица 2.** Иммуногистохимический анализ миокарда ушка правого предсердия у пациентов в зависимости от пола и сердечно-сосудистых осложнений после кардиохирургической операции

Показатель	Мужчины		Женщины		p (тест Стьюдента)	
	A (n = 34)	Б (n = 9)	A (n = 27)	Б (n = 17)	1–3	2–4
	1	2	3	4		
caspase-3, %	1,65 ± 0,37	3,9 ± 0,46*	0,98 ± 0,22	3,34 ± 0,4 <sup>†</sup>	0,000524	0,000152
bcl-2, %	0,28 ± 0,13	0,33 ± 0,15	1,26 ± 0,29	0,72 ± 0,25 <sup>†</sup>	0,000005	0,000036
MMP-2, %	+/+/+/+ (58/43/00)	+/+/+/+ (2/56/43) <sup>†</sup>	+/+/+/+ (47/52/00)	+/+/+/+ (00/68/31) <sup>†</sup>	0,000043	0,000005
TIMP-1, %	+/+/+/+/ (00/10/89)	+/+/+/+/ (19/29/52) <sup>†</sup>	+/+/+/+/ (00/5/93)	+/+/+/+/ (8/24/67) <sup>†</sup>	0,679875	0,001336
p38α, %	+/+/+/+ (2/66/32)	+/+/+/+ (3/30/69) <sup>†</sup>	+/+/+/+ (18/50/31)	+/+/+/+ (2/39/60) <sup>†</sup>	0,333184	0,000001
CD-34, об. %	41,04 ± 7,09	21,46 ± 8,5 <sup>†</sup>	42,69 ± 7,5	27,54 ± 5,88 <sup>†</sup>	0,164276	0,000481

A – благоприятное течение госпитального периода; Б – неблагоприятное течение госпитального периода

Количественные признаки представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M ± σ). Оценку локализации и интенсивности иммунной реакции MMP-2, TIMP-1 и p38α проводили полуколичественным методом +/+/+ в 20 случайно выбранных полях зрения (100%)

\* Статистически значимые различия между группами 1 и 2 (p < 0,05)

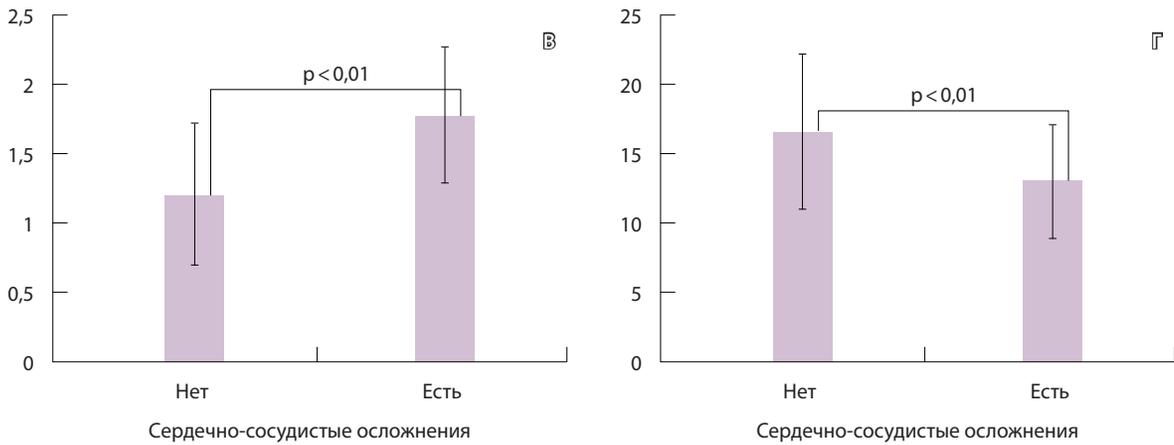
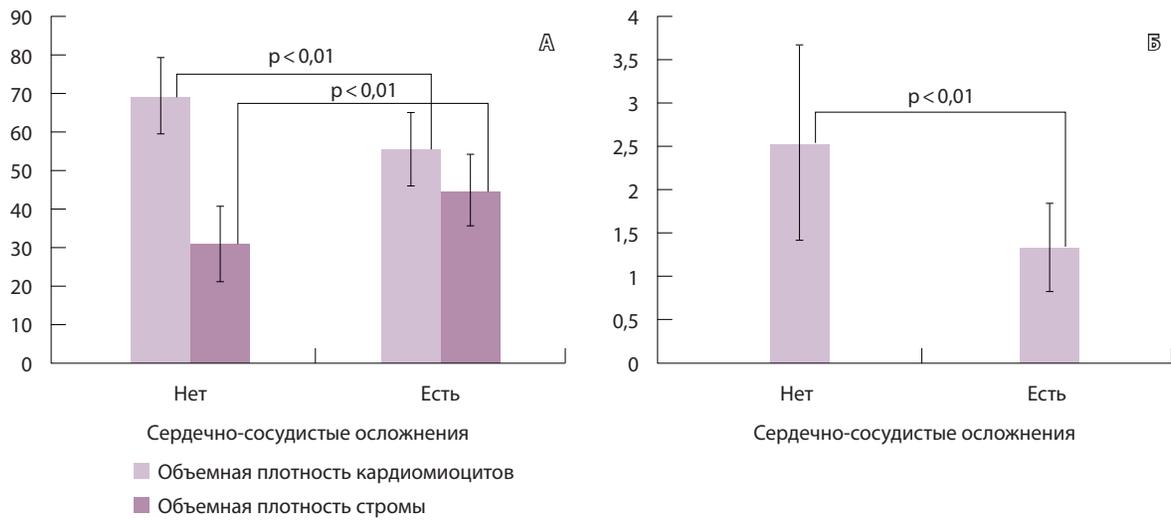
<sup>†</sup> Статистически значимые различия между группами 3 и 4 (p < 0,05)

периода. В миокарде УПП мужчин с ССО наблюдались меньшие значения ОП КМЦ, паренхиматозно-стромального отношения (ПСО), ОП капилляров. При этом отмечались значимо большая ОП стромы (p < 0,01) и индекс Керногана (отношение толщины сосудистой стенки артериол к радиусу их просвета) (p < 0,01) по сравнению с мужчинами из подгруппы с благоприятным течением послеоперационного периода (рис. 3). При ИГХ-анализе выявлено, что в подгруппе мужчин с ССО в послеоперационном периоде встречалось существенно большее количество КМЦ, экспрессирующих caspase-3 (p < 0,01), и незначимое увеличение bcl-2, регистрировались более высокая активность MMP-2 (p < 0,01), p38α (p < 0,01) и более низкая – TIMP-1 (p < 0,01). В подгруппе мужчин с ССО наблюдалась также более низкая ОП клеток, экспрессирующих CD-34 (p < 0,01), по сравнению с мужчинами без ССО в послеоперационном периоде (табл. 2).

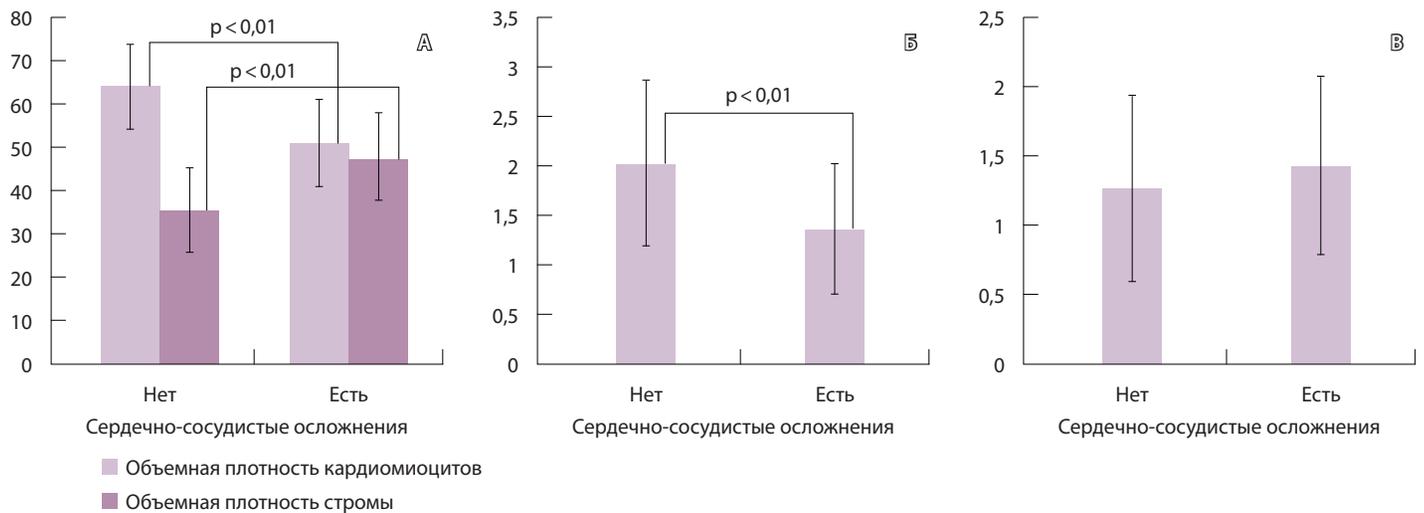
При сравнении данных морфометрии и ИГХ-показателей у женщин в группах с благоприятным и неблагоприятным течением послеоперационного периода выявлялась несколько иная морфологическая картина (рис. 4). В миокарде УПП женщин с ССО по сравнению с женщинами подгруппы с благоприятным течением послеоперационного периода отмечены меньшие значения ОП КМЦ и ПСО (p < 0,01 в обоих случаях), но статистически значимого изменения ОП капилляров выявлено не было (см. рис. 4). При

ИГХ-анализе выявлено, что в подгруппе женщин с ССО в послеоперационном периоде встречалось существенно большее количество КМЦ, экспрессирующих caspase-3 (p < 0,01), и уменьшение КМЦ, экспрессирующих bcl-2. Регистрировалась более высокая активность MMP-2 (p < 0,01), p38α (p < 0,01) и более низкая – TIMP-1 (p < 0,01) (см. табл. 2). В подгруппе женщин с ССО наблюдалась также более низкая ОП клеток, экспрессирующих CD-34 (p < 0,01), по сравнению с женщинами без ССО в послеоперационном периоде.

При сравнении групп мужчины/женщины по обследованным параметрам нам удалось выявить следующие особенности в группе с благоприятным течением послеоперационного стационарного периода. У мужчин были менее выражены процессы кардиофиброза в миокарде УПП, что проявилось более высоким ПСО по сравнению с женщинами: 2,55 ± 1,13 и 2,03 ± 0,83 соответственно (p < 0,01). В то же время ОП капилляров в группе женщин была выше и составила 19,48 ± 5,08 против 16,55 ± 5,59 в группе мужчин (p < 0,01). Анализ ИГХ-маркеров в этих группах показал, что у мужчин был более высокий уровень активации апоптоза, что проявлялось повышенным уровнем экспрессии caspase-3 (1,65 ± 0,37) и низким уровнем экспрессии bcl-2 (0,28 ± 0,13), тогда как у женщин с благоприятным течением послеоперационного периода апоптотическая активность была низкой: показатель caspase-3 был 0,98 ± 0,22, bcl-2 – 1,26 ± 0,29.



**Рис. 3.** Морфометрические различия у мужчин в зависимости от течения послеоперационного периода: **А** – объемная плотность кардиомиоцитов и стромы (об. %); **Б** – паренхиматозно-стромальное отношение; **В** – индекс Керногана; **Г** – объемная плотность капилляров (об. %)



**Рис. 4.** Морфометрические различия у женщин в зависимости от течения послеоперационного периода: **А** – объемная плотность кардиомиоцитов и стромы (об. %); **Б** – паренхиматозно-стромальное отношение; **В** – индекс Керногана

При сравнении разделенных по полу групп с ССО в послеоперационном периоде были установлены различия в ОП капилляров: у мужчин показатель был ниже, чем у женщин,  $-13,03 \pm 4,11$  против  $15,98 \pm 3,66$  ( $p < 0,01$ ). Кроме того, в группе мужчин выявлены признаки более значимой микроциркуляторной дисфункции, которые характеризовались более высоким индексом Керногана:  $1,78 \pm 0,49$  против  $1,43 \pm 0,64$  ( $p < 0,01$ ). ИГХ-анализ миокарда УПП в группах с ССО показал более значимую активацию апоптоза в виде высокого уровня экспрессии caspase-3 и низкого – bcl-2. У женщин наблюдалось аналогичное изменение в уровнях маркеров, характеризующих апоптоз, однако изменения были менее выраженными, чем у мужчин. В группе мужчин с ССО был отмечен более высокий уровень MMP-2, p38 $\alpha$  и более низкий уровень TIMP-1 и ОП CD-34, чем у женщин (см. табл. 2).

### Обсуждение

Несмотря на анатомическую и функциональную отдаленность УПП от ЛЖ, по мнению ряда авторов, структурно-функциональные изменения миокарда УПП отражают морфологические изменения в миокарде ЛЖ и могут быть предикторами неблагоприятного течения ХСН и исходов после КХО [28, 29]. При этом работы, характеризующие особенности морфогенеза ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ и с учетом половой принадлежности на тканевом и клеточном уровне, практически не встречаются как в отечественной, так и в зарубежной литературе. Изучение объединенных данных инструментальных и морфологических исследований у пациентов с ХСН без учета пола и ФВ ЛЖ, вероятно, стало одной из причин неудач в поиске клинических и молекулярных маркеров прогнозирования риска развития ССО после КХО.

В настоящем исследовании показано наличие явной гендерной составляющей в клеточной и молекулярной адаптации миокарда при ХСН. КМЦ и интерстициальные клетки считаются основными участниками структурной перестройки миокарда при патологии сердца [30]. В ряде работ указывается, что одним из наиболее информативных морфометрических параметров является диаметр КМЦ [24, 30]. По нашим данным, в норме он находился в пределах 10–13 мкм в миокарде УПП, значительно увеличиваясь при гипертрофии миокарда и снижаясь при его атрофии. Увеличение массы миокарда ЛЖ у пациентов с ХСН сопровождалось статистически значимым увеличением диаметра КМЦ и их ядер. У женщин с ССО в послеоперационном периоде отмечался больший диаметр КМЦ и их ядер, чем в группе мужчин. Необходимо

отметить статистически значимую большую ОП КМЦ у мужчин по сравнению с группой женщин с благоприятным течением послеоперационного периода. Известно, что гипертрофия КМЦ – компенсаторный ответ на их гибель и увеличивающийся миокардиальный стресс, позволяющий поддерживать систолическую функцию сердца [1]. Данный факт подтверждает существенное увеличение количества КМЦ, экспрессирующих проапоптотический маркер caspase-3 и p38 $\alpha$  у пациентов с ССО. ОП КМЦ у пациентов с неблагоприятным течением заболевания по сравнению с благоприятным сопровождалась возрастанием количества КМЦ с признаками апоптоза и экспрессии p38 $\alpha$ . При этом у мужчин с неблагоприятным течением наблюдалось более существенное возрастание caspase-3+ КМЦ по сравнению с подгруппами с благоприятным течением и с женщинами независимо от характера течения послеоперационного периода. У женщин в миокарде индекс апоптоза КМЦ во всех подгруппах был значимо ниже, экспрессия p38 $\alpha$  значимо ниже в группе с неблагоприятным течением, а уровень bcl-2 выше, чем в группе мужчин. Полученные результаты согласуются с данными других авторов [8, 13, 17] и демонстрируют половые особенности модуляции апоптотических и редокс-чувствительных сигнальных путей в миокарде при ХСН.

Уменьшение ОП КМЦ, увеличение количества атрофированных, каспазопозитивных миоцитов сопровождалось увеличением степени фиброза, что отражает протекающие компенсаторно-приспособительные процессы в миокарде. Данные изменения в миокарде при ХСН характеризовались активацией MMP-2 и TIMP-1. Матриксные металлопротеиназы и их эндогенные тканевые ингибиторы играют важную роль в контроле ремоделирования внеклеточного матрикса [31]. Желатиназа MMP-2 расщепляет эластин, интерстициальный коллаген I, II, III и IV типа и ряд других молекул экстрацеллюлярного матрикса. Активная форма внутриклеточной MMP-2, обнаруженная в КМЦ, расщепляет тропонин I, легкую цепь миозина и поли(АДФ-рибозу)-полимеразу, приводя к сердечной дисфункции [16]. Как показано в экспериментальных и клинических исследованиях, первоначальное ингибирование активности MMP приводит к развитию гипертрофии миокарда ЛЖ. Однако с течением времени высокая активность MMP обуславливает расширение полостей сердца и прогрессирование ХСН [31]. В настоящем исследовании в группе мужчин с неблагоприятным течением послеоперационного периода активность MMP-2 была существенно



выше, а TIMP-1 – ниже, чем в группе женщин, что отражает половые особенности дисбаланса MMP-2/TIMP-1 в миокарде.

Параллельно в миокарде при ХСН наблюдались существенные изменения и в сосудах МЦР, что согласуется с результатами других исследователей [28–30]. У пациентов с ССО выявлено значимое снижение ОП капилляров, ОП CD-34 клеток стромы, трофического индекса и увеличение индекса Керногана. У этих пациентов определялись явные нарушения структурной и пространственной организации МЦР. Рисунок сосудов становился прерывистым и хаотичным, встречались участки миокарда с практически отсутствующими CD-34-позитивными клетками стромы. При этом наблюдались области миокарда с высокой ОП CD-34 клеток, что, вероятно, говорит о компенсаторной активации ангиогенеза. Высокий индекс Керногана в группе пациентов с неблагоприятным течением после КХО свидетельствует о выраженном нарушении пропускной способности сосудов МЦР. А уменьшение ОП CD-34<sup>+</sup> клеток и трофического индекса указывает на нарушение взаимосвязи КМЦ и обменного звена МЦР, что, несомненно, существенно ухудшает трофику паренхимы миокарда, способствуя неблагоприятному ремоделированию.

В нашем исследовании основную долю осложнений – 74% – составили пароксизмальные нарушения ритма в виде пароксизмальной мерцательной аритмии. При этом данное осложнение почти вдвое чаще встречалось у женщин, чем у мужчин, как и общее количество ССО (см. табл. 1). Таким образом, мы можем заключить, что женщины более предрасположены к развитию ССО в послеоперационном периоде после КХО. При этом изменения, выявленные в миокарде УПП у мужчин, отражают, как уже было сказано, более выраженные, чем у женщин, процессы ремоделирования миокарда. Предположительно, выявленные нами изменения могут иметь значение в оценке

не только раннего послеоперационного периода в отношении развития ССО, но и долгосрочного прогноза пациентов, перенесших КХО.

Очевидно, представленное нами исследование имеет ряд ограничений. Так, группа женщин была старше группы мужчин. Период наблюдения выбран небольшой и ограничивался временем пребывания пациентов в стационаре. Учитывая все это, мы планируем продолжить наблюдение за пациентами и провести анализ отдаленных результатов и частоты ССО, а также их взаимосвязи с исходной морфофункциональной картиной миокарда УПП.

### Заключение

Результаты нашего исследования позволяют выделить ключевые изменения в миокарде УПП у пациентов, перенесших открытую операцию на сердце, которые могут быть использованы как предикторы ССО. К этим маркерам можно отнести выраженность кардиофиброза, ОП капилляров, микроциркуляторную дисфункцию, активацию апоптоза и ремоделирования. Предложенные нами маркеры могут быть использованы для создания более точных и прогностически значимых профилей риска осложнений после КХО с учетом пола пациента.

Несмотря на установленные по данным морфометрии миокарда и ИГХ-исследования маркеры и существенный вклад гендерных различий в ремоделирование миокарда, невозможно, опираясь только на полученные результаты, объяснить все существующие половые различия в молекулярных патогенетических механизмах развития ХСН. Накопление новых фактов, лежащих в основе патогенеза заболевания с учетом гендерных различий, изучение влияния половых гормонов и активности X и Y-генов на течение и прогрессирование ХСН представляются актуальными вопросами кардиологии, требующими дальнейших исследований. ©

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с данной статьей.

#### Финансирование

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 11-04-97000 p\_поволжье\_a).

### Литература

- Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, Pagano F, Schiavon S, Bordin A, Carrizzo A, Vecchione C, Valenti V, Chimenti I, De Falco E, Sciarretta S, Frati G. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3920195. doi: 10.1155/2017/3920195.
- Dunlay SM, Roger VL, Redfield MM. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(10):591–602. doi: 10.1038/nrcardio.2017.65.
- Fazal L, Azibani F, Vodovar N, Cohen Solal A, Delcayre C, Samuel JL. Effects of biological sex on the pathophysiology of the heart. *Br J Pharmacol*. 2014;171(3):555–66. doi: 10.1111/bph.12279.
- Seeland U, Regitz-Zagrosek V. Genes and hormones: sex differences in myocardial hypertrophy. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2013;8(Suppl 1):6–13. doi: 10.1007/s11789-013-0056-z.
- Patrizio M, Marano G. Gender differences in cardiac hypertrophic remodeling. *Ann Ist Super Sanita*. 2016;52(2):223–9. doi: 10.4415/ANN\_16\_02\_14.
- Crabbe DL, Dipla K, Ambati S, Zafeiridis A, Gaughan JP, Houser SR, Margulies KB. Gender differences in post-infarction hypertrophy in end-stage failing hearts. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(2):300–6. doi: 10.1016/S0735-1097(02)02710-9.



7. Zhang XP, Vatner SF, Shen YT, Rossi F, Tian Y, Peppas A, Resuello RR, Natividad FF, Vatner DE. Increased apoptosis and myocyte enlargement with decreased cardiac mass; distinctive features of the aging male, but not female, monkey heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43(4): 487–91. doi: 10.1016/j.jmcc.2007.07.048.
8. Biondi-Zoccai GG, Baldi A, Biasucci LM, Abbate A. Female gender, myocardial remodeling and cardiac failure: are women protected from increased myocardiocyte apoptosis? *Ital Heart J.* 2004;5(7):498–504.
9. Lista P, Straface E, Brunelleschi S, Franconi F, Malorni W. On the role of autophagy in human diseases: a gender perspective. *J Cell Mol Med.* 2011;15(7):1443–57. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01293.x.
10. Regitz-Zagrosek V, Seeland U. Sex and gender differences in myocardial hypertrophy and heart failure. *Wien Med Wochenschr.* 2011;161(5–6):109–16. doi: 10.1007/s10354-011-0892-8.
11. Yeh JK, Wang CY. Telomeres and telomerase in cardiovascular diseases. *Genes (Basel).* 2016;7(9). pii: E58. doi: 10.3390/genes7090058.
12. Wong LS, van der Harst P, de Boer RA, Huzen J, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Aging, telomeres and heart failure. *Heart Fail Rev.* 2010;15(5):479–86. doi: 10.1007/s10741-010-9173-7.
13. Piro M, Della Bona R, Abbate A, Biasucci LM, Crea F. Sex-related differences in myocardial remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(11): 1057–65. doi: 10.1016/j.jacc.2009.09.065.
14. Chen YZ, Qiao SB, Hu FH, Yuan JS, Yang WX, Cui JG, Zhang Y, Zhang CL. Left ventricular remodeling and fibrosis: Sex differences and relationship with diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Radiol.* 2015;84(8): 1487–92. doi: 10.1016/j.ejrad.2015.04.026.
15. Zhao Z, Wang H, Jessup JA, Lindsey SH, Chappell MC, Groban L. Role of estrogen in diastolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(5):H628–40. doi: 10.1152/ajpheart.00859.2013.
16. Kandasamy AD, Chow AK, Ali MA, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. *Cardiovasc Res.* 2010;85(3):413–23. doi: 10.1093/cvr/cvp268.
17. Nishida K, Yamaguchi O, Hirotani S, Hikoso S, Higuchi Y, Watanabe T, Takeda T, Osuka S, Morita T, Kondoh G, Uno Y, Kashiwase K, Taniike M, Nakai A, Matsumura Y, Miyazaki J, Sudo T, Hon-go K, Kusakari Y, Kurihara S, Chien KR, Takeda J, Hori M, Otsu K. p38alpha mitogen-activated protein kinase plays a critical role in cardiomyocyte survival but not in cardiac hypertrophic growth in response to pressure overload. *Mol Cell Biol.* 2004;24(24):10611–20. doi: 10.1128/MCB.24.24.10611-10620.2004.
18. Murphy E, Steenbergen C. Estrogen regulation of protein expression and signaling pathways in the heart. *Biol Sex Differ.* 2014;5(1):6. doi: 10.1186/2042-6410-5-6.
19. Wang M, Wang Y, Weil B, Abarbanell A, Herrmann J, Tan J, Kelly M, Meldrum DR. Estrogen receptor beta mediates increased activation of PI3K/Akt signaling and improved myocardial function in female hearts following acute ischemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009;296(4):R972–8. doi: 10.1152/ajp-regu.00045.2009.
20. Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med.* 2013;19(3):197–209. doi: 10.1016/j.molmed.2012.12.007.
21. Novotny JL, Simpson AM, Tomicek NJ, Lancaster TS, Korzick DH. Rapid estrogen receptor-alpha activation improves ischemic tolerance in aged female rats through a novel protein kinase C epsilon-dependent mechanism. *Endocrinology.* 2009;150(2):889–96. doi: 10.1210/en.2008-0708.
22. Mikhail GW. Coronary revascularisation in women. *Heart.* 2006;92 Suppl 3:i19–23. doi: 10.1136/hrt.2005.070359.
23. Heer T, Hochadel M, Schmidt K, Mehilli J, Zahn R, Kuck KH, Hamm C, Böhm M, Ertl G, Hoffmeister HM, Sack S, Senges J, Massberg S, Gitt AK, Zeymer U. Sex differences in percutaneous coronary intervention-insights from the coronary angiography and pci registry of the German Society of Cardiology. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(3). pii: e004972. doi: 10.1161/JAHA.116.004972.
24. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности 2016. *Российский кардиологический журнал.* 2017;(1):7–81. doi: 10.15829/1560-4071-2017-1-7-81.
25. Мареев ВЮ, Агеев ФТ, Арутюнов ГП, Коротеев АВ, Мареев ЮВ, Овчинников АГ, Беленков ЮН, Васюк ЮА, Галявич АС, Гарганеева АА, Гиляревский СР, Глезер МГ, Козиолова НА, Коц ЯИ, Лопатин ЮМ, Мартынов АИ, Моисеев ВС, Ревившвили АШ, Ситникова МЮ, Скибицкий ВВ, Соколов ЕИ, Сторожаков ГИ, Фомин ИВ, Чесникова АИ, Шляхто ЕВ. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). Утверждены на Конгрессе ОССН 7 декабря 2012 года, на Правлении ОССН 31 марта 2013 и Конгрессе РКО 25 сентября 2013 года. *Журнал Сердечная Недостаточность.* 2013;14(7): 379–472. doi: 10.18087/rhfj.2013.7.1860.
26. Авдандилов ГГ. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М.: Медицина; 1984. 285 с.
27. Лискова ЮВ, Стадников АА, Саликова СП. Роль гендерных особенностей в ремоделировании миокарда, развитии сердечно-сосудистых осложнений и эффективности фармакотерапии у пациентов с сердечной недостаточностью, подвергшихся кардиохирургическим операциям. *Российский кардиологический журнал.* 2017;(11):77–85. doi: 10.15829/1560-4071-2017-11-77-85.
28. Саликова СП, Стадников АА, Семагин АП. Морфологические аспекты ремоделирования сердца при хронической сердечной недостаточности. *Морфология.* 2002;122(5): 60–2.
29. Казаков ВА. Морфологические аспекты послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией. *Артериальная гипертензия.* 2009;15(3):376–83.
30. Непомнящих ЛМ, Лушникова ЕЛ, Семёнов ДЕ. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: морфологические основы и молекулярные механизмы. М.: Изд-во РАМН; 2003. 225 с.
31. Осипова ОА, Нагибина АИ, Комисов АА, Петрова ГД, Шеховцова ЛВ, Власенко МА, Власенко ОА. Патоморфологические механизмы регуляции образования миокардиального фиброза у больных хронической сердечной недостаточностью на фоне ишемической болезни сердца. *Журнал Сердечная Недостаточность.* 2016;17(5):357–64. doi: 10.18087/rhfj.2016.5.2137.

## References

1. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, Pagano F, Schiavon S, Bordin A, Carrizzo A, Vecchione C, Valenti V, Chimenti I, De Falco E, Sciarretta S, Frati G. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:3920195. doi: 10.1155/2017/3920195.
2. Dunlay SM, Roger VL, Redfield MM. Epidemiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Nat Rev Cardiol.* 2017;14(10):591–602. doi: 10.1038/nrcardio.2017.65.



3. Fazal L, Azibani F, Vodovar N, Cohen Solal A, Delcayre C, Samuel JL. Effects of biological sex on the pathophysiology of the heart. *Br J Pharmacol.* 2014;171(3):555–66. doi: 10.1111/bph.12279.
4. Seeland U, Regitz-Zagrosek V. Genes and hormones: sex differences in myocardial hypertrophy. *Clin Res Cardiol Suppl.* 2013;8(Suppl 1):6–13. doi: 10.1007/s11789-013-0056-z.
5. Patrizio M, Marano G. Gender differences in cardiac hypertrophic remodeling. *Ann Ist Super Sanita.* 2016;52(2):223–9. doi: 10.4415/ANN\_16\_02\_14.
6. Crabbe DL, Dipla K, Ambati S, Zafeiridis A, Gaughan JP, Houser SR, Margulies KB. Gender differences in post-infarction hypertrophy in end-stage failing hearts. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(2):300–6. doi: 10.1016/S0735-1097(02)02710-9.
7. Zhang XP, Vatner SF, Shen YT, Rossi F, Tian Y, Peppas A, Resuello RR, Natividad FF, Vatner DE. Increased apoptosis and myocyte enlargement with decreased cardiac mass; distinctive features of the aging male, but not female, monkey heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43(4):487–91. doi: 10.1016/j.yjmcc.2007.07.048.
8. Biondi-Zoccai GG, Baldi A, Biasucci LM, Abbate A. Female gender, myocardial remodeling and cardiac failure: are women protected from increased myocardial apoptosis? *Ital Heart J.* 2004;5(7):498–504.
9. Lista P, Straface E, Brunelleschi S, Franconi F, Malorni W. On the role of autophagy in human diseases: a gender perspective. *J Cell Mol Med.* 2011;15(7):1443–57. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01293.x.
10. Regitz-Zagrosek V, Seeland U. Sex and gender differences in myocardial hypertrophy and heart failure. *Wien Med Wochenschr.* 2011;161(5–6):109–16. doi: 10.1007/s10354-011-0892-8.
11. Yeh JK, Wang CY. Telomeres and telomerase in cardiovascular diseases. *Genes (Basel).* 2016;7(9). pii: E58. doi: 10.3390/genes7090058.
12. Wong LS, van der Harst P, de Boer RA, Huzen J, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Aging, telomeres and heart failure. *Heart Fail Rev.* 2010;15(5):479–86. doi: 10.1007/s10741-010-9173-7.
13. Piro M, Della Bona R, Abbate A, Biasucci LM, Crea F. Sex-related differences in myocardial remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(11):1057–65. doi: 10.1016/j.jacc.2009.09.065.
14. Chen YZ, Qiao SB, Hu FH, Yuan JS, Yang WX, Cui JG, Zhang Y, Zhang CL. Left ventricular remodeling and fibrosis: Sex differences and relationship with diastolic function in hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Radiol.* 2015;84(8):1487–92. doi: 10.1016/j.ejrad.2015.04.026.
15. Zhao Z, Wang H, Jessup JA, Lindsey SH, Chappell MC, Groban L. Role of estrogen in diastolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(5):H628–40. doi: 10.1152/ajpheart.00859.2013.
16. Kandasamy AD, Chow AK, Ali MA, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. *Cardiovasc Res.* 2010;85(3):413–23. doi: 10.1093/cvr/cvp268.
17. Nishida K, Yamaguchi O, Hirofumi S, Hikoso S, Higuchi Y, Watanabe T, Takeda T, Osuka S, Morita T, Kondoh G, Uno Y, Kashiwase K, Taniike M, Nakai A, Matsumura Y, Miyazaki J, Sudo T, Honggo K, Kusakari Y, Kurihara S, Chien KR, Takeda J, Hori M, Otsu K. p38alpha mitogen-activated protein kinase plays a critical role in cardiomyocyte survival but not in cardiac hypertrophic growth in response to pressure overload. *Mol Cell Biol.* 2004;24(24):10611–20. doi: 10.1128/MCB.24.24.10611-10620.2004.
18. Murphy E, Steenbergen C. Estrogen regulation of protein expression and signaling pathways in the heart. *Biol Sex Differ.* 2014;5(1):6. doi: 10.1186/2042-6410-5-6.
19. Wang M, Wang Y, Weil B, Abarbanell A, Herrmann J, Tan J, Kelly M, Meldrum DR. Estrogen receptor beta mediates increased activation of PI3K/Akt signaling and improved myocardial function in female hearts following acute ischemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009;296(4):R972–8. doi: 10.1152/ajp-regu.00045.2009.
20. Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med.* 2013;19(3):197–209. doi: 10.1016/j.molmed.2012.12.007.
21. Novotny JL, Simpson AM, Tomicek NJ, Lancaster TS, Korzick DH. Rapid estrogen receptor-alpha activation improves ischemic tolerance in aged female rats through a novel protein kinase C epsilon-dependent mechanism. *Endocrinology.* 2009;150(2):889–96. doi: 10.1210/en.2008-0708.
22. Mikhail GW. Coronary revascularisation in women. *Heart.* 2006;92 Suppl 3:iii19–23. doi: 10.1136/hrt.2005.070359.
23. Heer T, Hochadel M, Schmidt K, Mehilli J, Zahn R, Kuck KH, Hamm C, Böhm M, Ertl G, Hoffmeister HM, Sack S, Senges J, Massberg S, Gitt AK, Zeymer U. Sex differences in percutaneous coronary intervention—insights from the coronary angiography and pci registry of the German Society of Cardiology. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(3). pii: e004972. doi: 10.1161/JAHA.116.004972.
24. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016;37(27):2129–200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128.
25. Mareev VYu, Ageev FT, Arutyunov GP, Koroteev AV, Mareev YuV, Ovchinnikov AG, Belenkov YuN, Vasyuk YuA, Galyavich AS, Garganeeva AA, Gilyarevsky SR, Glezer MG, Drapkina OM, Koziolova NA, Kots YaI, Lopatin YuM, Martynov AI, Moiseev VS, Revishvili AS, Sitnikova MYu, Skibitsky VV, Sokolov EI, Storozhakov GI, Fomin IV, Chesnikova AI, Shlyakhto EV. SEHF, RSC and RSMSIM National Guidelines on CHF Diagnostics and Treatment (fourth revision). Approved at the SEHF Congress on December 7, 2012, at the SEHF Board of Directors Meeting on March 31, 2013, and at the RSC Congress on September 25, 2013. *Russian Heart Failure Journal.* 2013;14(7):379–472. doi: 10.18087/rhfj.2013.7.1860.
26. Avtandilov GG. Problem of pathogenesis and pathoanatomical diagnostics of illnesses in aspects of morphometry. Moscow: Meditsina; 1984. 285 p. Russian.
27. Liskova YV, Stadnikov AA, Salikova SP. Role of gender specifics in myocardial remodeling, cardiovascular complications development and efficacy of pharmacotherapy in heart failure patients after cardiac surgery. *Russian Journal of Cardiology.* 2017;11(1):77–85. Russian. doi: 10.15829/1560-4071-2017-11-77-85.
28. Salikova SP, Stadnikov AA, Semagin AP. Morphological aspects of heart remodeling in chronic heart failure. *Morfologiya.* 2002;122(5):60–2. Russian.
29. Kazakov VA. Postoperative morphology of structural left ventricular remodeling in patients with ischemic cardiomyopathy. *Arterial'naya Gipertenziya.* 2009;15(3):376–83. Russian.
30. Nepomnyashchikh LM, Lushnikova EL, Semenov DE. Regenerative and plastic insufficiency of the heart: Morphological bases and molecular mechanisms. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2003. 225 p. Russian.
31. Osipova OA, Nagibina AI, Komisov AA, Petrova GD, Shekhovtsova LV, Vlasenko MA, Vlasenko OA. Pathomorphological mechanisms for regulation of myocardial fibrosis formation in patients with chronic heart failure with underlying ischemic heart disease. *Russian Heart Failure Journal.* 2016;17(5):357–64. doi: 10.18087/rhfj.2016.5.2137.



# Gender particulars of morphological phenotypes of the right atrial appendage myocardium in patients with chronic heart failure who underwent an open heart surgery

Yu.V. Liskova<sup>1,2</sup> • A.A. Stadnikov<sup>1</sup> • S.P. Salikova<sup>2</sup>

**Background:** For many decades, women in all age groups have a high risk of mortality and perioperative complications of cardiac surgery (CS), with its cause being unclear until now. Preoperative prediction of cardiovascular complications (CVC), based only on the clinical and instrumental criteria without taking gender into account, also remains unsuccessful. There is an opinion that the structural and functional changes in the myocardium, which exist before the operation, could significantly affect the patient's condition after cardiac surgery. **Aim:** To identify morphological and molecular predictors of unfavorable prognosis in chronic heart failure (CHF) patients of both genders after CS. **Materials and methods:** The study included 87 CHF patients of both genders referred for an elective cardiac surgery. Before the operation, a standard examination and treatment of CHF and concomitant disorders were performed. A sample of the right atrial appendage (RAA) myocardium that had been resected during the CS, was studied by histological, immunohistochemical (IHC) (expression of caspase-3, bcl-2, MMP-2, TIMP-1, p38 $\alpha$ , CD-34) and morphometric methods. At days 10 to 14 after CS, the presence of CVC was assessed in all the participants. We examined the relationship between the development of CVC and morphological changes in the RAA myocardium before surgery, taking into account the patients' gender. **Results:** Compared to the group with the favorable postoperative course in the myocardium, in the male/female group with unfavorable post-CS course there was a significant reduction in the cardiomyocyte (CMC) diameter ( $13.26 \pm 3.14$ ;  $p < 0.01$  /  $13.99 \pm 3.64$ ;  $p < 0.01$ ), the bulk density (BD) of CMC ( $55.4 \pm 9.45$ ;  $p < 0.01$  /  $51.22 \pm 10.12$ ;  $p < 0.01$ ) vol. %, a trophic index ( $0.24 \pm 0.1$ ;  $p < 0.01$  /  $0.21 \pm 0.06$ ;  $p < 0.01$ ), as well as a significant increase in the stromal BD ( $44.91 \pm 9.23$ ;  $p < 0.01$  /  $47.78 \pm 10.12$ ;  $p < 0.01$ )

vol. % and the Kernogan index ( $1.78 \pm 0.49$ ;  $p < 0.01$  /  $1.43 \pm 0.64$ ;  $p = 0.143$ ). IHC analysis of the RAA myocardium in the male/female group with an unfavorable postoperative course showed an increase in the amount of caspase-3 (+) CMC ( $3.9 \pm 0.46$ ;  $p < 0.01$  /  $3.34 \pm 0.4$ ;  $p < 0.01$ ), an increase in the activity of +/+/+/+ p38 $\alpha$  ( $3/30/69$ ;  $p < 0.01$  /  $2/39/60$ ;  $p < 0.01$ ) %, the expression of MMP-2 ( $2/56/43$ ;  $p < 0.01$  /  $0/68/31$ ;  $p < 0.01$ ) %, with a decrease in the expression of TIMP-1 ( $19/29/52$ ;  $p < 0.01$  /  $8/24/67$ ;  $p < 0.01$ ) % and BD of CD-34 stromal cells ( $18.46 \pm 8.5$ ;  $p < 0.01$  /  $27.54 \pm 5.88$ ;  $p < 0.01$ ) %, compared with groups with a favorable current. **Conclusion:** The study showed the role of caspase-3, MMP-2, and CD-34 in the RAA myocardium as prognostic markers of CVC in the early postoperative period, as well as gender differences in modulation of the apoptotic pathways and inefficiency of anti-apoptotic mechanisms in the RAA myocardium. Based on the assessment of the RAA myocardial reorganization, an integral prognostic picture of the structural and functional changes in the myocardium has been proposed, which makes it possible to identify a special patient cohort with an exceptionally high risk of unfavorable course of the post-CS period.

**Key words:** cardiovascular complications, myocardial remodeling, gender particulars, immunohistochemistry, cardiosurgery

**For citation:** Liskova YuV, Stadnikov AA, Salikova SP. Gender particulars of morphological phenotypes of the right atrial appendage myocardium in patients with chronic heart failure who underwent an open heart surgery. Almanac of Clinical Medicine. 2018;46(4):355–66. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-355-366.

Received 3 April 2018; accepted 13 September 2018

## Conflict of interests

The authors declare that they have no conflicts of interest related to publication of this manuscript.

## Funding

The study was done under the grant from the Russian Foundation for Fundamental Research (RFFI) (project # 11-04-97000 p\_поволжье\_а).

**Yuliya V. Liskova** – MD, PhD, Assistant of the Department of Internal Diseases<sup>1</sup>; Doctoral Student, 2<sup>nd</sup> Department (Therapy, Improvement of Doctors)<sup>2</sup>  
✉ 53–27 Turkestanskaya ul., Orenburg, 460001, Russian Federation. Tel.: +7 (912) 846 86 46.  
E-mail: liskovaj@bk.ru

**Alexander A. Stadnikov** – ScD in Biology, Professor, Chief of the Department of Histology, Cytology and Embryology<sup>1</sup>

**Svetlana P. Salikova** – MD, PhD, Associate Professor, 2<sup>nd</sup> Department (Therapy, Improvement of Doctors)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Orenburg State Medical University (OrSMU); 6 Sovetskaya ul., Orenburg, 460000, Russian Federation

<sup>2</sup> Military Medical Academy named after S.M. Kirov; 6G Akademika Lebedeva ul., Saint Petersburg, 194044, Russian Federation



Клинические наблюдения

# Редкие клинические наблюдения «комбинированных» карцином кожи у реципиентов аллотрансплантата трупной почки

Казанцева И.А.<sup>1</sup> • Гуревич Л.Е.<sup>1</sup> • Бобров М.А.<sup>1</sup>

Наиболее распространенная разновидность рака кожи у реципиентов трансплантированных органов – плоскоклеточный рак, за ним следует базальноклеточный рак. Заболеваемость и смертность от рака кожи у реципиентов трансплантированных органов намного выше, чем в общей популяции, что связывают с длительной лекарственной иммуносупрессией. Для данной группы пациентов также характерно развитие множественных опухолей. В статье приводится описание двух редких сочетаний карцином кожи различного гистологического строения у пациентов с аллотрансплантатом трупной почки. Клиническое наблюдение 1: пациентка 43 лет. В 2011 г. пациентке выполнена аллотрансплантация трупной почки (АТП) по поводу терминальной стадии хронической почечной недостаточности, обусловленной врожденной кистозной дисплазией (поликистозом) почек, с последующим удалением трансплантата спустя 1,5 месяца; в 2014 г. – повторная АТП, до настоящего времени получает иммуносупрессивную терапию. В 2013 г. больная отметила появление на коже надключичной области справа и слева двух медленно увеличивающихся новообразований; клинически новообразования были расценены как базальноклеточный

рак и удалены хирургически. При гистологическом исследовании резецированных фрагментов кожи в эпидермисе обнаружены очаги плоскоклеточной карциномы *in situ* (болезнь Бовена), чередующиеся с фокусами поверхностной базалиомы; в дерме, вплоть до подкожной жировой клетчатки, – разрастания плоскоклеточного ороговевающего рака полиморфного строения с преобладанием акантолитического варианта, базальноклеточной карциномы типа морфеа и базальноплоскоклеточной карциномы. Клиническое наблюдение 2: пациент 63 лет. В 2007 г. пациенту проведена АТП по поводу терминальной стадии хронической почечной недостаточности, обусловленной почечнокаменной болезнью с хроническим пиелонефритом. При осмотре в 2013 г. на коже передней поверхности шеи в области яремной вырезки грудины обнаружена грибовидная опухоль диаметром 3 см на ножке диаметром 1 см, с эритематозной бугристой поверхностью. Выполнено иссечение опухоли в пределах неизменной кожи. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании установлено, что образование состоит из двух различных опухолей, тесно прилежащих друг к другу и разделенных узкой прослойкой дермы – нейроэндокринной

карциномы кожи из клеток Меркеля и порокарциномы с признаками плоскоклеточной и себацейной дифференцировки. **Заключение.** Приведенные описания редких наблюдений подтверждают актуальность проблемы трансплантационной онкопатологии кожи, которая в условиях свойственного этому органу постоянного обновления тканевых компонентов и ослабления иммунного надзора за процессами пролиферации и дифференцировки отличается разнообразием гистологических вариантов и неблагоприятным прогнозом.

**Ключевые слова:** трансплантация почки, рак кожи, плоскоклеточный рак, базальноклеточный рак, порокарцинома, карцинома Меркеля

**Для цитирования:** Казанцева ИА, Гуревич ЛЕ, Бобров МА. Редкие клинические наблюдения «комбинированных» карцином кожи у реципиентов аллотрансплантата трупной почки. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):367–73. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-367-373.

Поступила 22.03.2018;  
принята к публикации 21.05.2018

**И**звестно, что заболеваемость и смертность от рака кожи у реципиентов трансплантированных органов (РТО) намного выше, чем в общей популяции. Это объясняют длительной лекарственной иммуносупрессией, стимулирующей ультрафиолетовое повреждение ДНК эпидермоцитов и способствующей реактивации потенциально онкогенных вирусов [1]. По данным, приведенным J. Wu и соавт. [2], этот риск у пациентов с пересаженными органами в 4–5 раз выше, чем в общей популяции, а по данным A. Tuzuner и соавт. [3] – в 100 раз. Частая встречаемость рака кожи

у РТО побудила международное сообщество организовать в 2004 г. ассоциацию дерматологов США и Австралии (International Skin Cancer in Organ Transplant Patients Collaborative Group – ITSCC) для совместного изучения этой проблемы и создания регистра трансплантационных опухолей кожи. Ранее, в 2002 г., подобный общеевропейский регистр (Skin Care in Organ Transplant Patients, Europe – SCOPE) был создан во Франции и Италии. Согласно международным рекомендациям, факторами высокого риска развития трансплантационного рака кожи считаются следующие: рак кожи и/или актинический кератоз



**Казанцева Ирина Александровна** – д-р мед. наук, профессор, руководитель патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

**Гуревич Лариса Евсеевна** – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–13, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 631 74 22. E-mail: larisgur@mail.ru

**Бобров Максим Александрович** – ст. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

в анамнезе, светлая кожа, хроническая инсоляция или солнечные ожоги, пожилой возраст, продолжительность и выраженность иммуносупрессии, инфекция вирусом папилломы человека, пониженное содержание CD4 Т-лимфоцитов-хелперов в крови [4]. Наиболее распространенная разновидность рака кожи у РТО – плоскоклеточный рак (ПКР), за ним следует базальноклеточный рак (БКР). Мы располагаем двумя наблюдениями сочетания разных гистологических вариантов карцином кожи в одном очаге у реципиентов аллотрансплантата трупной почки.

### Наблюдение 1

Пациентке 43 лет в 2011 г. проведена аллотрансплантация трупной почки (АТТП) по поводу терминальной стадии хронической почечной недостаточности, обусловленной врожденной кистозной дисплазией (поликистозом) почек, с последующим удалением трансплантата спустя 1,5 месяца; в 2014 г. – повторная АТТП, до настоящего времени получает иммуносупрессивную терапию. В 2013 г. отметила появление на коже надключичной области справа и слева двух медленно увеличивающихся новообразований с неровными контурами, шелушащихся, светло-коричневого цвета, слегка выступающих над поверхностью кожи, достигших к сентябрю 2015 г. размеров 1×2,5 и 1×1 см. Регионарные лимфатические узлы не увеличены; 09.09.2015 под местной анестезией оба новообразования удалены хирургическим путем с отступом на 1 см от видимых границ опухолей. Клинически новообразования были расценены как БКР.

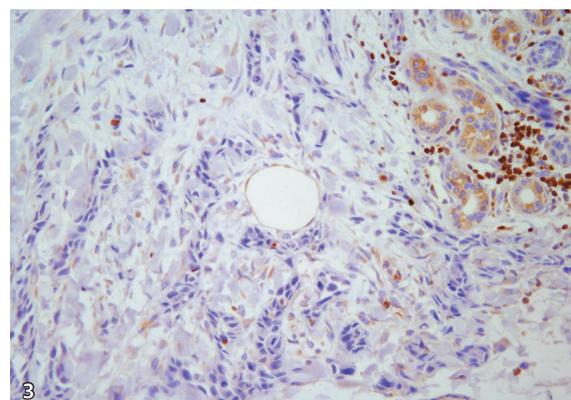
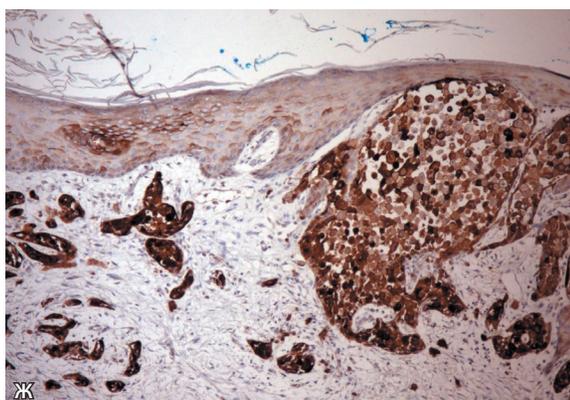
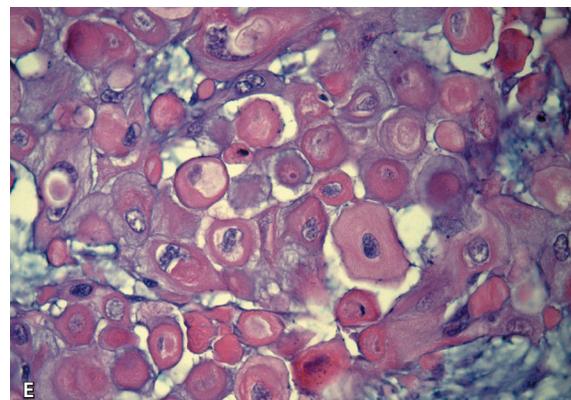
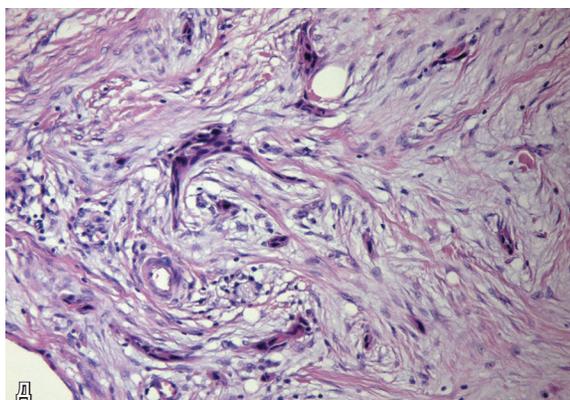
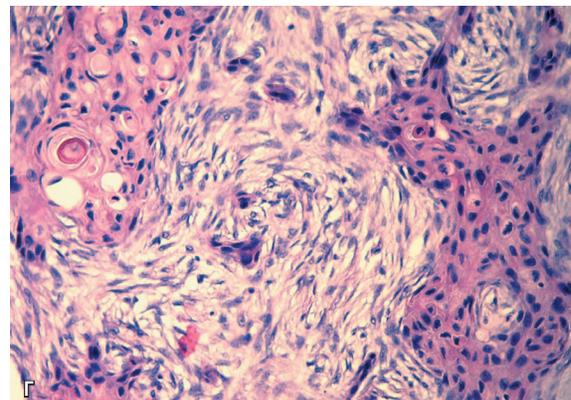
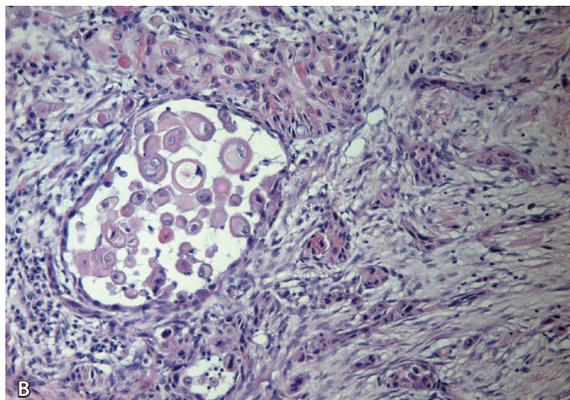
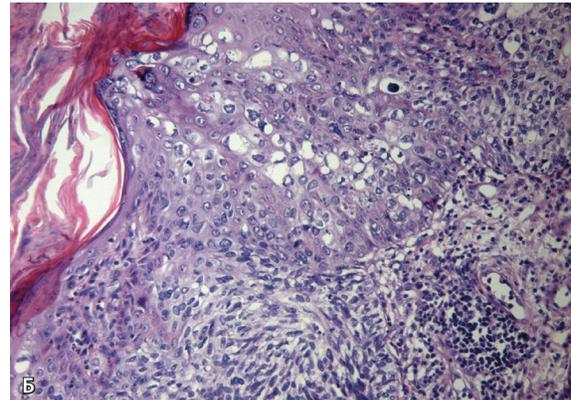
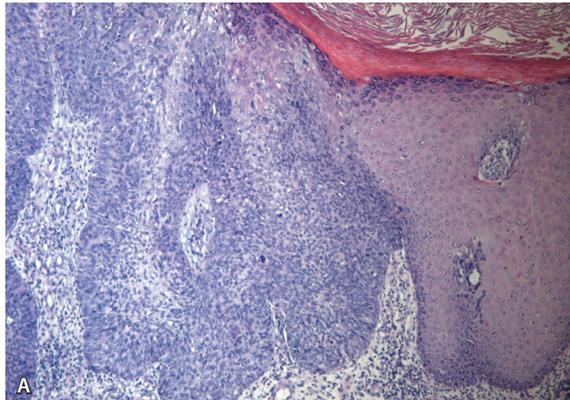
При гистологическом исследовании в эпидермисе резецированных фрагментов кожи определяются множественные четко отграниченные участки карциномы *in situ* (болезнь Бовена), чередующиеся с фокусами поверхностной базалиомы, некоторые из них располагаются непосредственно на «бовенизированном» эпидермисе (рис. 1 А, Б). В подлежащей дерме вплоть до подкожной жировой клетчатки определяются разрастания плоскоклеточного ороговевающего рака полиморфного строения с преобладанием структур редкого акантолитического варианта опухоли и выраженным ороговением раковых акантолитических клеток. В тех же участках, наряду со структурами ПКР, имеются разрастания БКР типа морфеа с высоким инвазивным потенциалом. В отдельных комплексах базалиомы определяются признаки плоскоклеточной дифференцировки и акантолиза. И наконец, имеются участки «метатипического» рака, как бы промежуточного между ПКР и БКР, с необычной высококлеточной стромой (рис. 1 В–Д). При иммуногистохимическом исследовании (ИГХ) как плоскоклеточные, так и базальноклеточные участки опухоли экспрессируют

эпителиальный мембранный антиген (ЕМА), цитokerатины (ЦК) широкого спектра (клон AE1/AE3), ЦК5/6 и ЦК14, то есть обладают иммунофенотипом плоскоклеточной карциномы; характерной для базалиомы экспрессии bcl-2 и CD10 не обнаружено, что подтверждает выявленную гистологически тенденцию к трансформации базальноклеточных структур опухоли в ПКР (рис. 1 Е, Ж). Опухолевая инвазия ограничена дермой, резекция проведена радикально, периневральной и/или васкулярной инвазии не выявлено. Пациентка находилась на динамическом наблюдении у онкодерматолога и челюстно-лицевого хирурга, в течение 4 месяцев продолженного роста или рецидива не отмечено. Однако спустя 6 месяцев в левой подмышечной области слева обнаружен подкожный опухолевый узел диаметром до 4 см; при гистологическом исследовании – метастаз в лимфатический узел акантолитического ПКР с выраженным индивидуальноклеточным ороговением, при этом базальноклеточный компонент в метастатической опухоли отсутствовал (рис. 1 З).

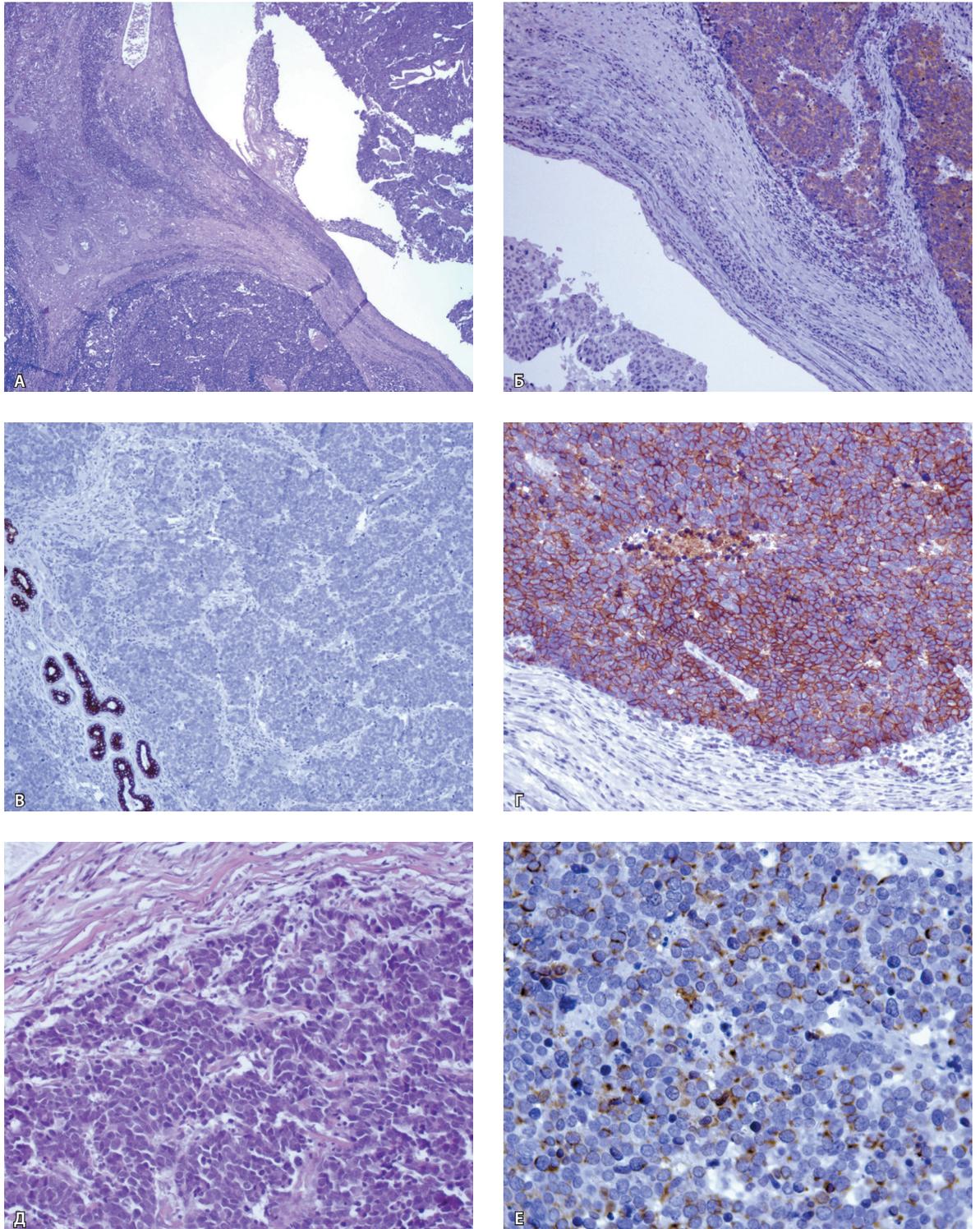
### Наблюдение 2

Пациенту 63 лет 10 лет назад выполнена АТТП по поводу терминальной стадии хронической почечной недостаточности, обусловленной почечнокаменной болезнью с хроническим пиелонефритом, все это время получал иммуносупрессивную терапию. При осмотре в 2013 г. на коже передней поверхности шеи в области яремной вырезки грудины определяется грибовидная опухоль диаметром 3 см на ножке диаметром 1 см, с эритематозной бугристой поверхностью. Кожа вокруг опухоли мацерирована, регионарные лимфатические узлы не увеличены. Выполнено иссечение опухоли в пределах неизменной кожи. Спустя год область послеоперационного рубца без особенностей. При гистологическом исследовании установлено, что образование состоит из двух различных опухолей, тесно прилежащих друг к другу и разделенных узкой прослойкой дермы. Эпидермис частично сохранен, имеется поверхностное изъязвление, в дне которого определяется опухоль с солидно-диффузным типом роста и формированием мелких гнезд из округлых клеток с мелкодисперсным хроматином ядер и узким ободком цитоплазмы. Митозы многочисленны, часто встречается рексис ядер опухолевых клеток и очаги некроза (рис. 2 А, Б). При ИГХ исследовании опухолевые клетки экспрессируют общие маркеры нейроэндокринной дифференцировки – CD56, хромогранин А и синаптофизин, а также по «точечному» типу (dot-like) экспрессируют ЦК20, что характерно для карцином Меркеля. Гистологическое строение опухоли и ее иммунофенотип соответствуют нейроэндокринной карциноме кожи из клеток Меркеля (рис. 2 В–Д). Вторая опухоль исходила из стенки кистозной

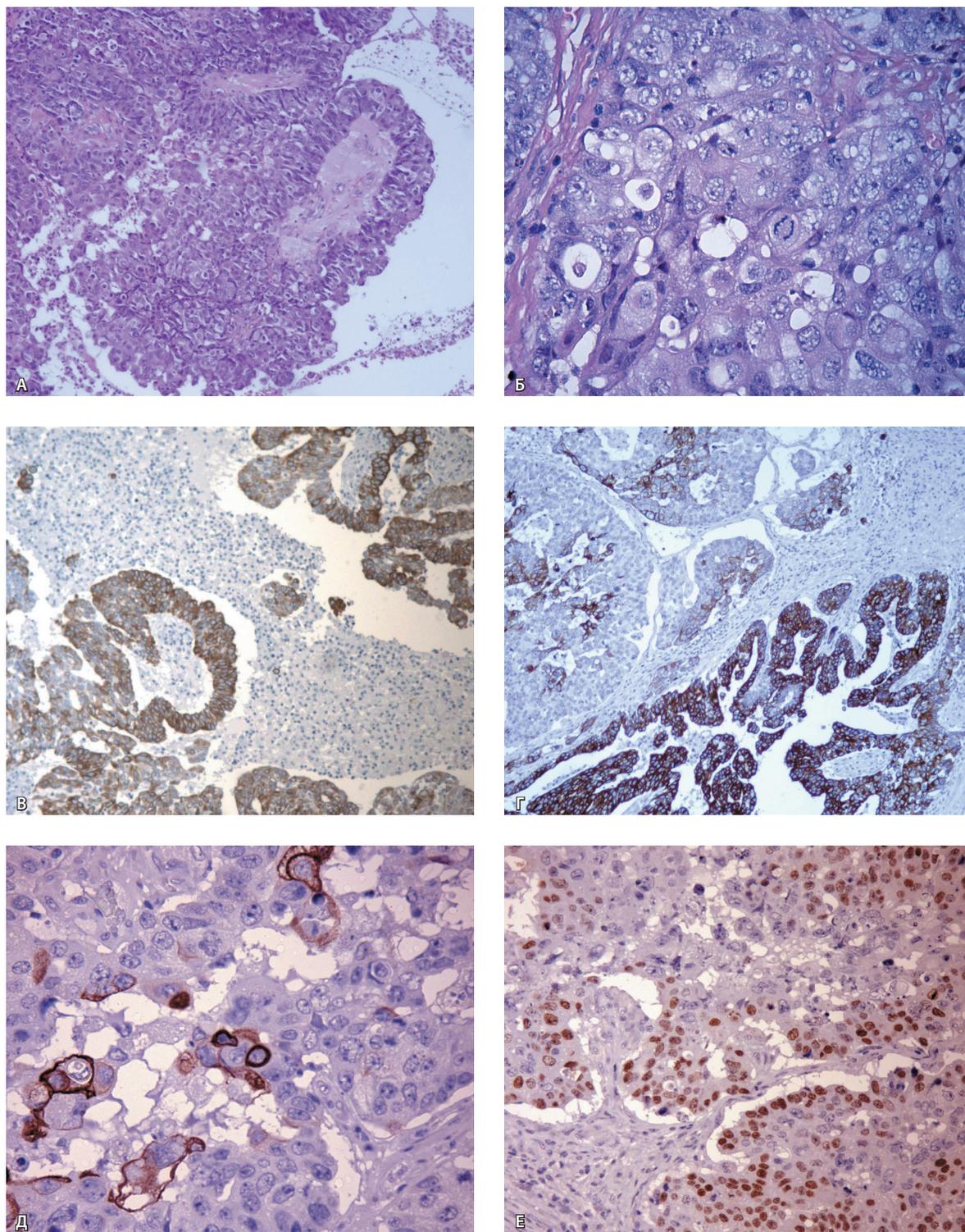
<sup>1</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



**Рис. 1.** Наблюдение 1, пациентка 43 лет:  
**А** – плоскоклеточная карцинома *in situ* (слева),  $\times 100$ ;  
**Б** – поверхностный базальноклеточный рак и болезнь Боуена в одном очаге,  $\times 200$ ;  
**В** – инвазивный компонент плоскоклеточного рака с выраженным акантолизом,  $\times 200$ ;  
**Г** – «метатипический» рак с клеточной стромой,  $\times 200$ ;  
**Д** – базалиома типа морфеа,  $\times 200$ ;  
**Е** – метастаз плоскоклеточного рака в лимфатический узел, представленный ороговевшими акантолитическими клетками,  $\times 400$ ;  
**Ж** – экспрессия клетками опухоли ЕМА,  $\times 100$ ;  
**З** – отсутствие экспрессии Vcl-2 в клетках опухоли,  $\times 200$ ; окраска гематоксилином и эозином (**А–Е**), иммуногистохимическое исследование (**Ж, З**)



**Рис. 2.** Наблюдение 2, пациент 63 лет: **А** – комбинированное строение опухолевого узла: карцинома Меркеля (слева внизу), порокарцинома (справа вверху),  $\times 40$ ; **Б** – тот же участок, экспрессия хромогранина А в карциноме Меркеля,  $\times 100$ ; **В** – карцинома Меркеля,  $\times 200$ ; **Г** – экспрессия CD56 в клетках карциномы Меркеля,  $\times 200$ ; **Д** – отсутствие экспрессии цитокератина 7 в клетках карциномы Меркеля. В прослойке дермы СК7-позитивные протоки потовых желез,  $\times 100$ ; **Е** – «точечный» (dot-like) тип экспрессии цитокератина 20 в клетках карциномы Меркеля,  $\times 400$ ; окраска гематоксилином и эозином (**А, В**), иммуногистохимическое исследование (**Б, Г–Е**)



**Рис. 3.** Наблюдение 2, пациент 63 лет (продолжение). Порокарцинома: **А** – папилломатозные структуры в просвете кистозной полости,  $\times 100$ ; **Б** – себациная дифференцировка клеток опухоли,  $\times 400$ ; **В** – экспрессия цитокератина 14 в порокарциноме,  $\times 40$ ; **Г** – экспрессия цитокератина 7 в порокарциноме,  $\times 40$ ; **Д** – экспрессия цитокератина 5/6 единичными клетками порокарциномы,  $\times 400$ ; **Е** – экспрессия p63 в ядрах опухолевых клеток,  $\times 200$ ; окраска гематоксилином и эозином (**А, Б**), иммуногистохимическое исследование (**В–Е**)



полости, предположительно, трихоломмальной кисты или расширенной поры, и инвазировала окружающую дерму, формируя солидные и папиллярные структуры из крупных полиморфных клеток с пузырьковидными ядрами, заметными ядрышками и слабо эозинофильной цитоплазмой. Часть клеток содержала в цитоплазме крупные оптически пустые вакуоли (признаки себацной дифференцировки). Митозы опухолевых клеток многочисленны, в том числе патологические (рис. 3 А–Г). При ИГХ-исследовании опухолевые клетки экспрессируют p63, ЦК широкого спектра (клон AE1/AE3), ЦК7, в отдельных клетках – ЦК5/6 и ЦК14 (рис. 3 Д, Е). По своим морфологическим и иммунофенотипическим характеристикам опухоль более всего соответствует порокарциноме с признаками плоскоклеточной и себацной дифференцировки.

### Обсуждение

В статье описаны два уникальных клинических наблюдения пациентов с трансплантированной почкой, у которых на фоне иммуносупрессии в разные сроки после трансплантации развились несколько различных опухолей кожи: акантолитический вариант ПКР и БКР, карцинома из клеток Меркеля и низкодифференцированная порокарцинома. Частота развития ПКР кожи находится в прямой зависимости от длительности и дозы иммуносупрессивной терапии: в 7% случаев при иммуносупрессивной терапии в течение 1 года, в 82% – после 20 лет [5]. В сумме на ПКР и БКР кожи приходится более 90% всех случаев рака кожи у РТО. Наиболее частая локализация опухолей – голова, шея, верхняя конечности. Если в общей популяции соотношение БКР/ПКР составляет 4:1, то у РТО оно обратное, при этом у 30–50% пациентов имеется сочетание ПКР и БКР [6, 7]. Трансплантационные карциномы кожи обычно ассоциированы с множественными бородавками и предраковыми кератозами, болезнью Бовена и кератоакантомами; на базе этих поражений встречаются случаи нетипичного для

общей популяции быстрого развития инвазивного ПКР кожи высокой степени злокачественности [8, 9]. В целом заболеваемость злокачественными опухолями кожи у РТО возрастает в 100 раз. Так, в Норвегии частота ПКР кожи после трансплантации почки и сердца увеличилась в 65 раз, саркомы Капоши – в 84 раза, ПКР губы – в 20 раз, меланомы – всего втрое [10]. Установлено, что у РТО нейроэндокринная карцинома кожи из клеток Меркеля встречается более часто и протекает более злокачественно. В литературе описано только 55 случаев карциномы Меркеля у РТО, развившейся в среднем через 7,5 года после трансплантации и ассоциированной с другими кожными карциномами [11]. ПКР кожи у РТО диагностируется в более молодом возрасте, спустя 3–5 лет после трансплантации, часто возникает мультицентрично. Течение ПКР в этих случаях может быть необычно агрессивным. По данным опухолевого регистра штата Цинциннати (США), 5,2% всех РТО умирают от злокачественных опухолей кожи, из них 63% приходится на ПКР кожи [12]. В группе умерших австралийских пациентов с трансплантированным сердцем (41 наблюдение) ПКР кожи послужил причиной смерти в 27% случаев. Локальные рецидивы ПКР в течение 6 месяцев установлены у 13,4% пациентов, метастазы – у 5–8%; последние обычно диагностируются в течение второго года после удаления первичной опухоли [13].

### Заключение

Приведенные в статье редкие клинические наблюдения подтверждают актуальность проблемы трансплантационной онкопатологии кожи, которая в условиях свойственного этому органу постоянного обновления тканевых компонентов и ослабления иммунного надзора за процессами пролиферации и дифференцировки отличается разнообразием гистологических вариантов и неблагоприятным прогнозом. ☺

#### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

#### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

### Литература / References

1. Ponticelli C, Cucchiari D, Bencini P. Skin cancer in kidney transplant recipients. *J Nephrol.* 2014;27(4):385–94. doi: 10.1007/s40620-014-0098-4.
2. Wu J, Wang X, Lin C, Yu S, Cai L, Gao Z. Carcinosarcoma of native renal pelvis in recipient after a renal transplant: a case report. *World J Surg Oncol.* 2014;12:407. doi: 10.1186/1477-7819-12-407.
3. Tuzuner A, Çakir F, Akyol C, Çelebi ZK, Ceylaner S, Ceylaner G, Sengül S, Keven K. Nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma of the allograft after renal transplantation: report of two cases. *Transplant Proc.* 2013;45(3):958–60. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.02.054.
4. Stasko T, Brown MD, Carucci JA, Euvrard S, Johnson TM, Sengelmann RD, Stockfleth E, Tope WD; International Transplant-Skin Cancer Collaborative; European Skin Care in Organ Transplant Patients Network. Guidelines for the management of squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *Dermatol Surg.* 2004;30(4 Pt 2):642–50. doi: 10.1111/j.1524-4725.2004.30150.x.
5. Ramsay HM, Fryer AA, Hawley CM, Smith AG, Harden PN. Non-melanoma skin cancer risk in the Queensland renal transplant population. *Br J Dermatol.* 2002;147(5):950–6. doi: 10.1046/j.1365-2133.2002.04976.x.
6. Euvrard S. Skin cancers after organ transplants. *Presse Med.* 2008;37(10):1475–9. doi: 10.1016/j.lpm.2008.06.004.



7. Bouwes Bavinck JN, Hardie DR, Green A, Cutmore S, MacNaught A, O'Sullivan B, Siskind V, Van Der Woude FJ, Hardie IR. The risk of skin cancer in renal transplant recipients in Queensland, Australia. A follow-up study. *Transplantation*. 1996;61(5):715–21.
8. Cooper SM, Wojnarowska F. The accuracy of clinical diagnosis of suspected premalignant and malignant skin lesions in renal transplant recipients. *Clin Exp Dermatol*. 2002;27(6):436–8. doi: 10.1046/j.1365-2230.2002.01069.x.
9. Kempf W, Mertz KD, Hofbauer GF, Tinguely M. Skin cancer in organ transplant recipients. *Pathobiology*. 2013;80(6):302–9. doi: 10.1159/000350757.
10. Jensen P, Hansen S, Møller B, Leivestad T, Pfeffer P, Geiran O, Fauchald P, Simonsen S. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40(2 Pt 1):177–86. doi: 10.1016/S0190-9622(99)70185-4.
11. Penn I, First MR. Merkel's cell carcinoma in organ recipients: report of 41 cases. *Transplantation*. 1999;68(11):1717–21.
12. Penn I. Tumors after renal and cardiac transplantation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1993;7(2):431–45. doi: 10.1016/S0889-8588(18)30250-8.
13. Ong CS, Keogh AM, Kossard S, Macdonald PS, Spratt PM. Skin cancer in Australian heart transplant recipients. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40(1):27–34. doi: 10.1016/S0190-9622(99)70525-6.

## Rare clinical cases of “combined” skin carcinomas in cadaver renal allograft recipients

I.A. Kazantseva<sup>1</sup> • L.E. Gurevich<sup>1</sup> • M.A. Bobrov<sup>1</sup>

The most prevalent skin cancer in the transplant organ recipients is squamous cell cancer, followed by basal cell cancer. The skin cancer incidence and related mortality in the transplant organ recipient are significantly higher than those in the general population, which is to be linked with prolonged pharmaceutical immunosuppression. Multiple tumors are also typical for this patient group. The article describes two rare combinations of skin carcinomas with different histological characteristics in patients with cadaver renal allograft (CRA). Clinical case 1: A 43-year old female patient. In 2011, she was transplanted with a CRA due to end-stage renal failure caused by congenital cystic dysplasia (multicystic kidney disease), with subsequent removal of the allograft at 1.5 months after the transplantation. In 2014, she had her second CRA transplanted and until now is on immunosuppressive therapy. In 2013, the patient noticed two slowly growing masses in her right and left supraclavicular areas; they were clinically assessed as basal cell cancer and surgically resected. Histological examination of the resected skin fragments showed squamous cell carcinoma focuses *in situ* (Bowen's disease), with alternating superficial basalioma focuses; proliferating keratinizing squamous cell cancer with polymorphous structure, with prevailing acantholytic type, morphoeic basal cell carcinoma and basal squamous cell carcinoma were found throughout the dermal layer, up to the subcutaneous tissue. Clinical case 2: A 63-year old male patient was transplanted with CRA in 2007, due to end-stage renal failure caused by

nephrolithiasis and chronic pyelonephritis. During the examination performed in 2013, a mushroom-like tumor (with a 3 cm diameter and a stipe of 1 cm in diameter, with erythematous tuberous surface) was found on the anterior neck surface, near the suprasternal notch. The tumor was surgically resected within the normal skin. Histological and immunochemical examinations showed that the mass consisted of two different tumors closely adjacent one to the other and separated by a narrow dermal layer, namely, neuroendocrine Merkel cell skin carcinoma and porocarcinoma with some signs of squamous cell and sebaceous cell differentiation. **Conclusion:** The descriptions of the rare cases confirm that transplantation-related skin cancers are highly relevant. Due to continuous renewal of the tissue components that is intrinsic to this organ, and due to deterioration of the immune control over proliferation and differentiation, they are characterized by a multiplicity of histological types and an unfavorable prognosis.

**Key words:** renal transplantation, skin cancer, squamous cell cancer, basal cell cancer, porocarcinoma, Merkel cell carcinoma

**For citation:** Kazantseva IA, Gurevich LE, Bobrov MA. Rare clinical cases of “combined” skin carcinomas in cadaver renal allograft recipients. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):367–73. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-367-373.

Received 22 March 2018; accepted 21 May 2018

**Irina A. Kazantseva** – MD, PhD, Head of Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

**Larisa E. Gurevich** – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

✉ 61/2–13 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 74 22. E-mail: larisgur@mail.ru

**Maksim A. Bobrov** – MD, Senior Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Клиническое наблюдение

# Опухоль из клеток вольфова протока: клиническое наблюдение и обзор литературы

Дубова Е.А.<sup>1</sup> • Павлов К.А.<sup>1</sup> • Лищук С.В.<sup>1</sup> • Тертычный А.С.<sup>2</sup> • Бахвалова А.А.<sup>2</sup> • Брюнин Д.В.<sup>2</sup>

**Дубова Елена Алексеевна** – д-р мед. наук, врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение<sup>1</sup>  
✉ 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (499) 190 94 90.  
E-mail: dubovaea@gmail.com

**Павлов Константин Анатольевич** – канд. мед. наук, врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение<sup>1</sup>

**Лищук Сергей Владимирович** – заведующий патологоанатомическим отделением<sup>1</sup>

**Тертычный Александр Семенович** – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова<sup>2</sup>

**Бахвалова Алла Алексеевна** – канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог гинекологического отделения клиники акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева<sup>2</sup>

**Брюнин Дмитрий Викторович** – д-р мед. наук, профессор, заведующий гинекологическим отделением клиники акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева<sup>2</sup>

Опухоль из клеток вольфова протока – редко встречающееся новообразование, развивающееся из остатков мезонефрального протока. В литературе описано не более 100 наблюдений данной опухоли. Авторы приводят собственное наблюдение опухоли из клеток вольфова протока у женщины 43 лет. По результатам лучевых методов исследования у пациентки была заподозрена субсерозная лейомиома матки, однако при оперативном вмешательстве установлено, что образование исходит из стенки маточной трубы. При гистологическом исследовании в стенке маточной трубы без признаков поражения слизистой оболочки определялся рост опухоли, представленной миксоматозно измененной стромой, в которой располагались участки криброзного, солидного и сетчатого строения из относительно мономорфных слабозозинофильных клеток со слабо полиморфными ядрами и единичными митозами. При

иммуногистохимическом исследовании в клетках опухоли отмечалась экспрессия виментина, общего цитокератина, цитокератина 7 и кальретинина. Показано, что окончательная верификация и проведение дифференциального диагноза с другими, в том числе злокачественными, опухолями маточных труб возможны только при помощи иммуногистохимического исследования.

**Ключевые слова:** опухоль, фаллопиевы трубы, опухоль из клеток вольфова протока

**Для цитирования:** Дубова ЕА, Павлов КА, Лищук СВ, Тертычный АС, Бахвалова АА, Брюнин ДВ. Опухоль из клеток вольфова протока: клиническое наблюдение и обзор литературы. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):374–8. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-374-378.

Поступила 19.03.2018;  
принята к публикации 23.04.2018

<sup>1</sup> ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России; 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Российская Федерация

Опухоль из клеток вольфова протока представляет собой редко встречающееся и малоизученное новообразование, которое впервые было описано М.Н. Kariminejad и R.E. Scully в 1973 г. [1]. Считается, что данная опухоль имеет мезонефрическое происхождение и развивается из персистирующих остатков мезонефрального (вольфова) протока. Мезонефральный проток

представляет собой парный орган, из которого развивается мужская половая система. У женщин в отсутствие антимюллера гормона происходит дегенерация этого протока с формированием широкой связки, боковой стенки шейки матки, влагалища и тела матки [2]. В связи с этим опухоль чаще всего развивается в области широкой связки матки, реже – в мезосальпинксе, маточной трубе, яичниках и брюшине [3].



В настоящее время в зарубежной литературе описано около 100 наблюдений данной опухоли [3, 4]. Возраст пациенток на момент установления диагноза варьировал от 18 до 81 года, в среднем составляя около 50 лет. Пациентки обычно предъявляли жалобы на боли или чувство тяжести в нижних отделах живота и кровотечение из половых путей. Примерно в половине наблюдений образование было обнаружено случайно при обследовании по поводу других заболеваний [4]. Обычно опухоль из клеток вольфова протока течет доброкачественно, однако описано около 20 наблюдений со злокачественным течением в виде отдаленных метастазов и рецидивов [4, 5]. Метастазы чаще всего обнаруживаются в печени и легких [6].

Приводим собственное наблюдение.

### Клиническое наблюдение

Пациентка 43 лет обратилась в клинику с жалобами на периодические тянущие боли внизу живота. Данные лабораторных методов исследования и уровни онкомаркеров в сыворотке крови были в пределах нормальных значений.

При ультразвуковом исследовании установлено: тело матки размерами  $64 \times 59 \times 63$  мм, структура миометрия неоднородная. Кпереди от матки левее срединной линии определяется образование неоднородной структуры с кровотоком размерами  $43 \times 38 \times 46$  мм. М-эхо – 9 мм, полость матки не деформирована. Шейка матки с кистами диаметром до 4 мм. Правый яичник размерами  $39 \times 26$  мм с фолликулами до 11 мм, левый яичник размерами  $36 \times 24$  мм с фолликулами до 10 мм.

По данным компьютерной томографии органов малого таза, матка несколько увеличена, в области левого угла определяется образование  $50 \times 40 \times 46$  мм с четкими контурами, неоднородной структуры. При контрастировании по периферии в нем определяются сосуды, контрастирование неоднородное.

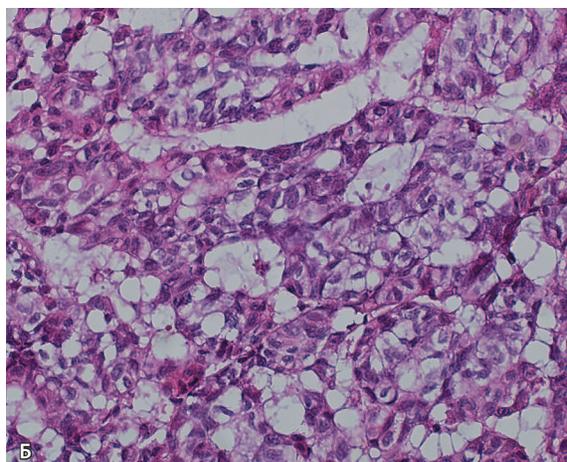
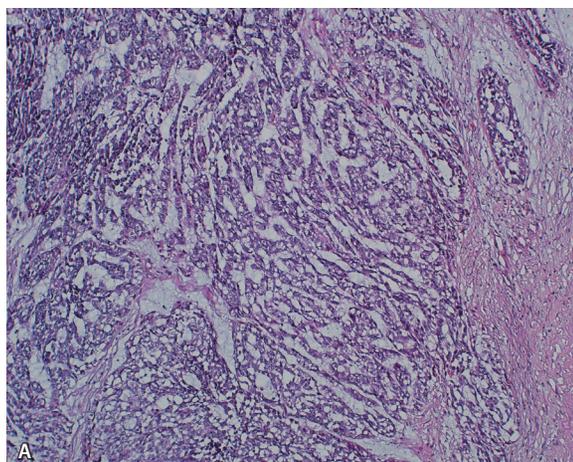


**Рис. 1.** Вид опухоли при лапароскопической тубэктомии

По результатам лучевых методов исследования было высказано предположение о наличии у пациентки субсерозной миомы матки, в связи с чем ей была выполнена лапароскопическая тубэктомия слева, гистероскопия и раздельное диагностическое выскабливание эндоцервикса и эндометрия. При лапароскопии в области левого угла матки определялось опухолевидное образование диаметром 5 см, исходящее из стенки левой маточной трубы (рис. 1).

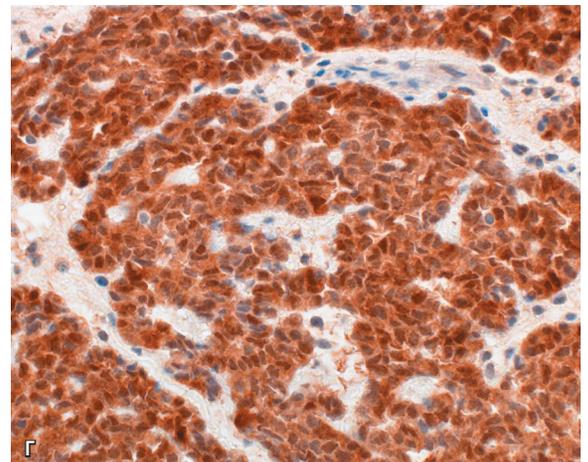
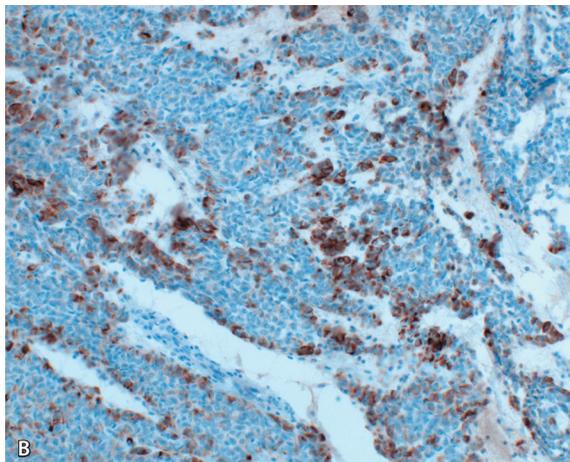
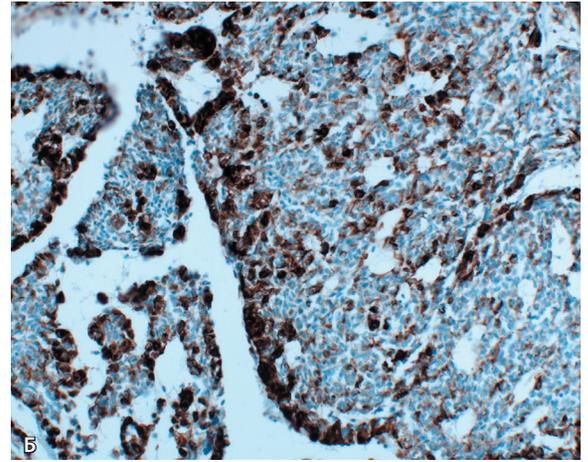
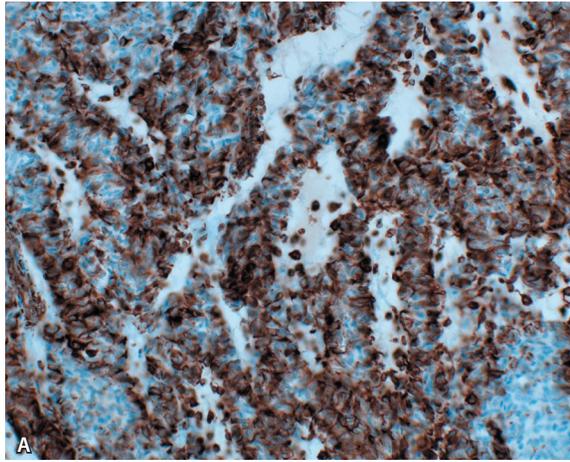
На морфологическое исследование были присланы соскоб эндоцервикса и эндометрия, а также маточная труба длиной 7 см диаметром до 8 мм с прилежащим опухолевидным образованием, исходящим из стенки маточной трубы, в капсуле размерами  $5 \times 4,5 \times 4$  см, однородной плотно-эластической консистенции, на разрезе желтовато-сероватого цвета.

При гистологическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, были выявлены железисто-фиброзный полип эндоцервикса и простая гиперплазия эндометрия. В стенке маточной трубы без распространения на ее слизистую оболочку определялся рост опухоли, окруженной соединительнотканной капсулой, образование представлено участками солидно-криброзного строения с формированием тяжей и трабекул, а также участками сетчатого



**Рис. 2.** Гистологическая картина опухоли из клеток вольфова протока: **А** – сетчатоподобные участки опухоли ( $\times 100$ ); **Б** – опухолевые клетки со слабо-эозинофильной цитоплазмой, округлыми и полигональными ядрами ( $\times 400$ ). Окраска гематоксилином и эозином

**Рис. 3.** Иммуногистохимическая характеристика опухоли из клеток вольфова протока: **А** – экспрессия виментина в опухолевых клетках (× 200); **Б** – экспрессия общего цитокератина в опухолевых клетках (× 200); **В** – экспрессия цитокератина 7 в опухолевых клетках (× 100); **Г** – экспрессия кальретинина в опухолевых клетках (× 400). Иммуногистохимическое исследование



строения (рис. 2А) из монотонных клеток с небольшим объемом слабозозинофильной цитоплазмы, слабополиморфными просветленными ядрами с четко различимыми ядрышками (рис. 2Б), а также с вытянутыми гиперхромными ядрами с единичными фигурами митозов. Имелись участки миксоматозно измененной стромы. Инвазия структур опухоли в капсулу отсутствовала, участки некрозов не определялись.

Для уточнения гистогенеза опухоли было проведено иммуногистохимическое исследование на иммуноштейнере Ventana BenchMark Ultra с использованием антител к общему цитокератину, цитокератину 7, цитокератину 20, эпителиальному мембранному антигену, виментину, белку S-100, SALL4, p53, рецепторам эстрогена, синаптофизину, кальретинину.

В клетках опухоли определялась диффузная мембранно-цитоплазматическая иммунореакция с антителами к виментину (рис. 3А), общему цитокератину (рис. 3Б), цитокератину 7 (рис. 3В), кальретинину (рис. 3Г), а также очаговая ядерная иммунореакция с антителами к рецепторам эстрогена и очаговая неравномерная слабовыраженная ядерная

иммунореакция с антителами к p53. Иммунореакция с антителами к цитокератину 20, эпителиальному мембранному антигену, SALL4, белку S-100 и синаптофизину в клетках опухоли отсутствовала. На основании гистологической картины и иммунофенотипа пациентке был установлен диагноз опухоли из клеток вольфова протока.

Послеоперационный период протекал гладко, пациентка выписана из стационара в удовлетворительном состоянии под наблюдение гинеколога и онколога по месту жительства.

### Обсуждение

В представленном наблюдении на дооперационном этапе у пациентки подозревалась доброкачественная опухоль, в частности, миома матки. Определить, что опухоль исходит из стенки маточной трубы, удалось только при лапароскопическом оперативном вмешательстве. Установить природу данного образования и провести дифференциальную диагностику со злокачественными новообразованиями маточных труб стало



возможным лишь после комплексного морфологического и иммуногистохимического исследования.

Из литературы известно, что в связи с очень низкой частотой и разнообразной локализацией образования дооперационная диагностика его затруднительна. При ультразвуковом исследовании, как правило, выявляется солидное высокоvascularизированное образование в области малого таза. При магнитно-резонансной томографии обнаруживаются гиперинтенсивные массы с кистозной дегенерацией в области придатков, которые трудно отличить от субсерозной лейомиомы или опухоли яичника. Уровень СА-125 у пациенток с данными образованиями обычно остается в пределах нормальных значений [3].

Основа диагностики опухолей из клеток вольфова протока – типичная морфологическая картина. Подавляющее большинство таких опухолей представляют собой одностороннее инкапсулированное солидное образование плотноэластической консистенции с наличием кистозных полостей и участков кровоизлияний на разрезе. Размеры образования варьируют от 0,8 до 20 см [4]. При микроскопическом исследовании в ткани опухоли выявляются участки нескольких типов роста: тубулярного с наличием плотных трубочек или солидных тяжей, ретикулярного, который представлен кистами различного размера, выстланными уплощенными клетками, и диффузного, состоящего из веретенновидных или полигональных клеток. При иммуногистохимическом исследовании в клетках опухоли отмечается иммунореакция с антителами к общим цитокератинам, САМ 5.2, цитокератину 7 и виментину. При этом реакция с антителами к ЕМА в клетках опухоли обычно отсутствует [3].

При гистологическом исследовании опухоль из клеток вольфова протока необходимо дифференцировать прежде всего с высокодифференцированной эндометриоидной аденокарциномой яичников, эндометриоидной аденокарциномой фаллопиевых труб, а также с опухолью из клеток Сертоли и Лейдига. Эндометриоидная аденокарцинома развивается из фаллопиевой трубы, тогда как опухоль вольфова генеза возникает за пределами маточной трубы в широкой связке матки или яичниках. Для эндометриоидной аденокарциномы характерна более выраженная атипия ядер и высокая митотическая активность [7]. Опухоли из клеток Сертоли и Лейдига могут иметь сходную морфологическую картину с опухолями вольфова генеза, однако последние

не сопровождаются развитием эндокринных симптомов, характерных для опухолей из клеток Сертоли и Лейдига. Кроме того, в литературе отсутствуют описания наблюдений опухолей из клеток Сертоли и Лейдига в области широкой связки и в паратубарной области, а наличие сетчатоподобных участков и отсутствие клеток Лейдига указывают на наличие опухоли вольфова генеза [8]. Не всегда удается провести дифференциальную диагностику между гранулезоклеточной опухолью широкой связки и опухолью из клеток вольфова протока. Полезным признаком в таких случаях является наличие инвагинаций в ядрах клеток гранулезоклеточной опухоли. Однако этот признак неисключительный для гранулезоклеточной опухоли и может наблюдаться в ряде других новообразований [9].

Прогноз заболевания не зависит от клинических проявлений, а неблагоприятными прогностическими факторами считаются некрозы опухолевой ткани, инвазия в капсулу и высокий митотический индекс. Необходимо указать, что рецидивы заболевания могут развиваться и в отсутствие агрессивных гистологических характеристик. Согласно данным литературы, среднее время развития рецидива составляет 48 месяцев и варьирует от 13 до 96 месяцев [10]. Сегодня отсутствуют точные рекомендации относительно предоперационного обследования и подготовки пациенток, а также выбора оптимального способа лечения данного заболевания [6]. Тем не менее самым эффективным методом лечения считается полное хирургическое удаление с гистерэктомией и двусторонней аднексэктомией, поскольку при удалении только опухолевой ткани в большинстве наблюдений развиваются рецидивы заболевания [10]. Роль адьювантной химиотерапии или лучевой терапии остается спорной [6]. При рецидивирующих или метастатических опухолях вольфова генеза есть опыт применения препаратов таргетной терапии, таких как ингибиторы тирозинкиназы, однако определить эффективность данного вида лечения можно только при проведении многоцентровых исследований [3]. В нашем наблюдении в структуре опухоли отсутствовали участки некрозов и признаки инвазивного роста в капсулу, а фигуры митозов были единичными. В связи с этим опухоль была расценена как доброкачественная. Однако, поскольку пациентке была выполнена только левосторонняя тубэктомия, рекомендовано динамическое наблюдение онкологом в связи с возможностью развития рецидива заболевания.

#### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

#### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.



## Заклучение

Описанное клиническое наблюдение представляет интерес в связи с редкостью и малой изученностью опухолей из клеток вольфова

протока, а также трудностями как дооперационной диагностики, так и последующего морфологического исследования операционного материала. ©

## Литература / References

1. Karimejad MH, Scully RE. Female adnexal tumor of probable Wolffian origin. A distinctive pathologic entity. *Cancer*. 1973;31(3):671–7. doi: 10.1002/1097-0142(197303)31:3<671::AID-CNCR2820310328>3.0.CO;2-K.
2. Heatley MK. Is female adnexal tumour of probable wolffian origin a benign lesion? A systematic review of the English literature. *Pathology*. 2009;41(7):645–8. doi: 10.3109/00313020903273084.
3. Türkçapar AF, Seçkin B, Güngör T, Sirvan L, Mollamahmutoğlu L. Diagnosis and management of female adnexal tumor of probable Wolffian origin (FATWO) arising from ovary: a case report. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2013;14(1):56–9. doi: 10.5152/jtgga.2013.14.
4. Hong S, Cui J, Li L, Buscema J, Liggins C, Zheng W. Malignant female adnexal tumor of probable wolffian origin: case report and literature review. *Int J Gynecol Pathol*. 2018;37(4):331–7. doi: 10.1097/PGP.0000000000000422.
5. Deshimaru R, Fukunaga T, Sato T, Morinaga S, Takahashi M. A case of metastatic female adnexal tumor of probable Wolffian origin. *Gynecol Oncol Rep*. 2014;10:22–4. doi: 10.1016/j.gore.2014.07.001.
6. Wakayama A, Matsumoto H, Aoyama H, Saio M, Kumagai A, Ooyama T, Inamine M, Aoki Y. Recurrent female adnexal tumor of probable Wolffian origin treated with debulking surgery, imatinib and paclitaxel/carboplatin combination chemotherapy: A case report. *Oncol Lett*. 2017;13(5):3403–8. doi: 10.3892/ol.2017.5874.
7. Tipps AM, Plaxe SC, Weidner N. Endometrioid carcinoma with a low-grade spindle cell component: a tumor resembling an adnexal tumor of probable Wolffian origin. *Ann Diagn Pathol*. 2011;15(5):376–81. doi: 10.1016/j.anndiag-path.2010.06.004.
8. Oliva E, Alvarez T, Young RH. Sertoli cell tumors of the ovary: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 54 cases. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(2):143–56. doi: 10.1097/01.pas.0000149692.21205.9c.
9. Czernobilsky B, Lifschitz-Mercer B, Trejo L, Atlas I. Granulosa cell tumor of the broad ligament: report of a case with emphasis on the differential diagnosis with female adnexal tumor of probable Wolffian origin. *Int J Surg Pathol*. 2011;19(6):783–6. doi: 10.1177/1066896909356104.
10. Lesin J, Forko-Ilić J, Plavec A, Planinić P. Management of Wolffian duct tumor recurrence without chemotherapy. *Arch Gynecol Obstet*. 2009;280(5):855–7. doi: 10.1007/s00404-009-1024-1.

# Wolffian tumor: a case report and a literature review

E.A. Dubova<sup>1</sup> • K.A. Pavlov<sup>1</sup> • S.V. Lishchuk<sup>1</sup> • A.S. Tertychnyi<sup>2</sup> • A.A. Bakhvalova<sup>2</sup> • D.V. Bryunin<sup>2</sup>

Wolffian tumor is a rare neoplasm arising from mesonephric duct remnants. Not more than 100 cases of the disease have been described. The authors present their own clinical observation of the Wolffian tumor in a 43-year old female patient. Radiological examinations resulted in the suspicion of a subserous leiomyoma of the uterus; however, the surgery showed a mass arising from the fallopian tube wall. Histologically, there was a growing tumor within the fallopian tube wall with no mucosal lesions. The tumor consisted of myxomatous stroma with cribriform, solid and reticular areas composed of relatively monomorphic, mildly eosinophilic cells with monotonous nuclei and single mitoses. On immunohistochemistry, the

tumor cells expressed vimentin, pan-cytokeratin, cytokeratin 7 and calretinin. This case illustrates that final verification and differential diagnosis of the tumor with other fallopian tube neoplasms, including malignancies, is only possible with an immunohistochemical study.

**Key words:** tumor, fallopian tube, Wolffian tumor

**For citation:** Dubova EA, Pavlov KA, Lishchuk SV, Tertychnyi AS, Bakhvalova AA, Bryunin DV. Wolffian tumor: a case report and a literature review. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):374–8. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-374-378.

Received 19 March 2018; accepted 23 April 2018

**Elena A. Dubova** – MD, PhD, Pathologist, Department of Pathology<sup>1</sup>  
✉ 46 Zhivopisnaya ul., Moscow, 123182, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 190 94 90.  
E-mail: dubovaea@gmail.com

**Konstantin A. Pavlov** – MD, PhD, Pathologist, Department of Pathology<sup>1</sup>

**Sergey V. Lishchuk** – MD, Head of Department of Pathology<sup>1</sup>

**Alexander S. Tertychnyi** – MD, PhD, Professor, A.I. Strukov Department of Pathology<sup>2</sup>

**Alla A. Bakhvalova** – MD, PhD, Gynecologist, Department of Obstetrics and Gynecology, V.F. Snegirev Clinic of Obstetrics and Gynecology<sup>2</sup>

**Dmitriy V. Bryunin** – MD, PhD, Professor, Head of Department of Obstetrics and Gynecology, V.F. Snegirev Clinic of Obstetrics and Gynecology<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical Biological Agency; 46 Zhivopisnaya ul., Moscow, 123182, Russian Federation

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya ul., Moscow, 119991, Russian Federation

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.



Клиническое наблюдение

# Клиническое наблюдение метастатического поражения щитовидной железы у пациентки с раком молочной железы

Бондаренко Е.В.<sup>1</sup> • Гуревич Л.Е.<sup>1</sup> • Котова И.В.<sup>1</sup>

**Бондаренко Екатерина Владимировна** – науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>  
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–13, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (916) 177 99 97.  
E-mail: ekaterinabondarenko@inbox.ru

**Гуревич Лариса Евсеевна** – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотр. патологоанатомического отделения<sup>1</sup>

**Котова Ирина Владимировна** – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. отделения хирургической эндокринологии<sup>1</sup>

Метастатические опухоли щитовидной железы (ЩЖ) встречаются редко. Обычно в ЩЖ метастазирует рак почки, легких, кожи, желудочно-кишечного тракта. Метастазы рака молочной железы встречаются реже и составляют, по разным выборкам, от 3 до 34% всех случаев метастатического поражения ЩЖ. Представляем редкий случай метастатического канцероматоза зобно измененной ЩЖ у пациентки 63 лет, перенесшей комбинированное лечение по поводу рака молочной железы. В 2016 г. пациентке была выполнена мастэктомия справа по поводу рака правой молочной железы (инвазивная карцинома неспецифического типа, Grade 2, с инвазией в кожу) с последующими 4 курсами химиотерапии. Впервые медленно увеличивающийся узел в ЩЖ обнаружен в 2012 г., в 2017 г. проведена тонкоигольная аспирационная биопсия, по данным которой диагностирована фолликулярная опухоль, выполнена тиреоидэктомия. При гистологическом исследовании в ткани зобно измененной ЩЖ обнаружены множественные мелкие очаги с выраженным полиморфизмом ядер, диагностика которых вызывала сомнения. С целью уточнения гистогенеза опухолевых очагов выполнено иммуногистохимическое исследование, первый этап которого включал

маркеры первичных опухолей ЩЖ (тиреоглобулин, ТТФ-1), второй – панель для диагностики рака молочной железы (маммаглобин, GATA-3, рецепторы к эстрогену и прогестерону). По результатам исследования диагностированы множественные мелкие метастазы инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа в зобно измененную ткань ЩЖ. Принимая во внимание встречающиеся трудности дифференциальной диагностики и значительный морфологический полиморфизм опухолей ЩЖ, мы рекомендуем расширять панель иммуногистохимического исследования у данной категории пациентов.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, метастазы, рак молочной железы, иммуногистохимическое исследование

**Для цитирования:** Бондаренко ЕВ, Гуревич ЛЕ, Котова ИВ. Клиническое наблюдение метастатического поражения щитовидной железы у пациентки с раком молочной железы. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):379–83. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-379-383.

Поступила 02.04.2018;  
принята к публикации 28.07.2018

<sup>1</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

**М**етастатическое поражение щитовидной железы (ЩЖ) составляет от 0,2 до 3% от всех злокачественных поражений этого органа [1, 2]. Наиболее часто встречаются метастазы рака почки, легких, желудочно-кишечного тракта; на долю метастазов рака молочной железы приходится от 3 до 34% всех случаев метастатического поражения ЩЖ [3–6]. Ряд авторов обращают внимание на трудность интерпретации результатов тонкоигольной аспирационной биопсии при метастатическом поражении ЩЖ и рекомендуют прибегать к дополненным цитохимическим методам диагностики [5, 7]. В литературе нет публикаций работ, в которых бы изучались особенности проведения гистологического и иммуногистохимического исследований метастатического поражения ЩЖ без цитологического подтверждения злокачественного процесса у пациентов с раком молочной железы в анамнезе. Представляем редкий случай метастатического канцероматоза зобно измененной ЩЖ у пациентки, перенесшей комбинированное лечение по поводу рака молочной железы.

### Клиническое наблюдение

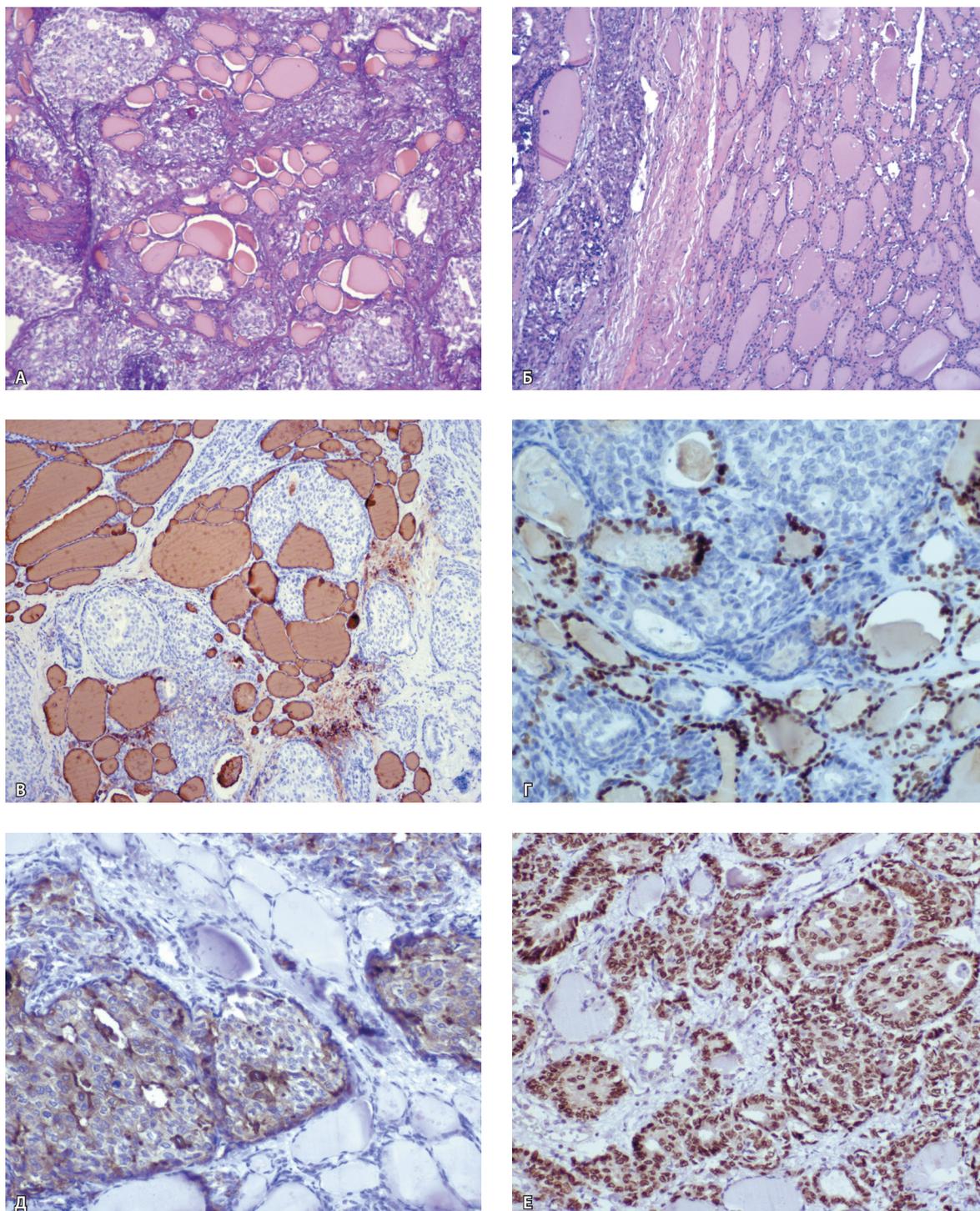
Пациентка Б. 63 лет поступила в отделение эндокринной хирургии ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского в сентябре 2017 г. с жалобами на кашель, эпизоды удушья, отсутствие аппетита, снижение массы тела на 8 кг в течение последних 4 месяцев. При поступлении состояние относительно удовлетворительное, ЩЖ увеличена до 2-й степени (по классификации Всемирной организации здравоохранения), мягко-эластичной консистенции, в правой доле пальпируется плотный узел. Проведено комплексное ультразвуковое исследование органов шеи, отмечено увеличение размеров и узловое образования ЩЖ, по данным тонкоигольной аспирационной биопсии – фолликулярная опухоль. Впервые узел в ЩЖ был обнаружен в 2012 г., выполненная тонкоигольная аспирационная биопсия оказалась неинформативной. Пациентка наблюдалась у эндокринолога по месту жительства, где отмечали медленное увеличение размеров ЩЖ. Из анамнеза также известно, что в 2016 г. пациентке была выполнена мастэктомия справа по поводу карциномы правой молочной железы (инвазивная карцинома неспецифического типа, Grade 2, с инвазией в кожу) с последующим проведением 4 курсов химиотерапии. На момент поступления принимала метронидазол 2,5 мг 1 раз в сутки. Данных за распространенность процесса не выявлено. Учитывая данные анамнеза заболевания и результаты тонкоигольной аспирационной биопсии,

пациентке было проведено оперативное лечение в объеме тиреоидэктомии.

При макроскопическом исследовании операционного материала ЩЖ увеличена – масса 112 г, левая доля размерами 6,5×3,5×2,2 см, правая – 7,0×4,5×3,5 см. На разрезе определялось множество сливающихся узлов серо-розового и беловато-желтого цвета с мелкими участками уплотнения. Гистологически в обеих долях на фоне зобных изменений – узловая гиперплазия макро- и нормофолликулярного строения, определялись множественные мелкие очаги солидно-криброзного строения диаметром от 0,2 до 0,9 см с выраженным полиморфизмом и наличием укрупненных просветленных ядер, инвазирующие капсулу органа (рис. А, Б). При обзорных окрасках гематоксилином и эозином окончательно установить гистогенез опухолевого поражения было затруднительно, что диктовало необходимость проведения дифференциального диагноза между слабо дифференцированным раком ЩЖ и метастазами рака молочной железы. Было проведено иммуногистохимическое исследование, первый этап которого включал маркеры первичных опухолей ЩЖ; экспрессии тиреоглобулина и ТТФ-1 не выявлено (рис. В, Г). На втором этапе использована расширенная панель, специфичная для рака молочной железы. В результате в клетках опухоли была выявлена экспрессия маммаглобина, GATA-3 (фактор транскрипции из семейства белков, экспрессия которого в первую очередь наблюдается в карциноме молочной железы) (рис. Д, Е), а также рецепторы к эстрогену и прогестерону. На основании результатов гистологического и иммуногистохимического исследований пациентке был поставлен диагноз метастатического канцероматоза зобно измененной ЩЖ при инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа.

### Обсуждение

Метастатическое поражение ЩЖ относится к редкой патологии и часто вызывает трудности диагностики даже на этапе гистологического исследования. Отчасти это объясняется значительным разнообразием опухолевой патологии ЩЖ (светлоклеточные, с железоподобными структурами, солидные островки и др.), способной имитировать метастазы рака других локализаций [8, 9]. Для верификации процесса используют специфичные иммуногистохимические панели антител первичной патологии ЩЖ, включающие следующие маркеры: тиреоглобулин, кальцитонин, ТТФ-1 (тиреоидный фактор транскрипции), цитокератин 19, хромогранин А, синаптофизин, Ki-67, в ряде случаев в панель добавляются галектин-3, HMVE-1. При



Метастазы рака молочной железы в щитовидную железу: **А** – множественные мелкие очаги с полиморфизмом ядер, перемешанные с фолликулами щитовидной железы; **Б** – участок ткани щитовидной железы на границе с метастатической опухолью (слева); **В** – отсутствие экспрессии тиреоглобулина в клетках опухоли и положительная реакция с этим маркером в окружающих фолликулах щитовидной железы; **Г** – отсутствие экспрессии TTF-1 в клетках опухоли и положительная реакция с этим маркером в окружающих фолликулах щитовидной железы; **Д** – экспрессия маммаглобина в цитоплазме клеток метастаза рака молочной железы и негативная реакция с этим маркером в окружающей ткани железы; **Е** – экспрессия GATA-3 в ядрах клеток метастазов рака молочной железы и негативная реакция с этим маркером в окружающей ткани железы. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$  (**А, Б**). Иммуногистохимическая реакция (**В–Е**),  $\times 250$  (**В, Г, Е**),  $\times 400$  (**Д**)



необходимости включают иные тканеспецифические маркеры, характерные для рака молочной железы, опухолей паразитовидных желез, желудочно-кишечного тракта, почки и других органов [10, 11].

Рак молочной железы – наиболее часто встречающееся онкологическое заболевание у женщин, и, по данным литературы, метастазы в ЩЖ возникают в течение 48,2 месяца с момента установления диагноза [4], некоторые авторы указывают на более отсроченное метастазирование – до 6 лет [5]. Имеются рекомендации по хирургическому лечению метастаза рака молочной железы в ЩЖ при цитологическом подтверждении злокачественного процесса [4]; опубликовано сообщение об особенностях метастазирования колоректальной карциномы в ткань ЩЖ [7]. Работ по особенностям морфологической диагностики метастазов рака молочной железы, имитирующих по

гистологическому строению солидно-фолликулярный вариант папиллярного рака ЩЖ, в литературе не найдено.

Метастатическое поражение ЩЖ у пациентов с раком молочной железы считается показателем неблагоприятного прогноза и требует как можно более раннего выявления.

## Заключение

Приведенный клинический случай можно отнести к редким наблюдениям метастатического канцероматоза зобно измененной ЩЖ у пациентки с раком молочной железы в анамнезе. Трудность диагностики заключалась в выраженном полиморфизме опухолевых очагов. Это указывает на необходимость использования расширенной иммуногистохимической панели для определения органоспецифичности образований у пациентов с отягощенным онкологическим анамнезом. ☺

### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

## Литература

1. Straccia P, Mosseri C, Brunelli C, Rossi ED, Lombardi CP, Pontecorvi A, Fadda G. Diagnosis and treatment of metastases to the thyroid gland: a meta-analysis. *Endocr Pathol.* 2017;28(2):112–20. doi: 10.1007/s12022-017-9475-6.
2. Chung AY, Tran TB, Brumund KT, Weisman RA, Bouvet M. Metastases to the thyroid: a review of the literature from the last decade. *Thyroid.* 2012;22(3):258–68. doi: 10.1089/thy.2010.0154.
3. Moghaddam PA, Cornejo KM, Khan A. Metastatic carcinoma to the thyroid gland: a single institution 20-year experience and review of the literature. *Endocr Pathol.* 2013;24(3):116–24. doi: 10.1007/s12022-013-9257-8.
4. Plonczak AM, DiMarco AN, Dina R, Gujral DM, Palazzo FF. Breast cancer metastases to the thyroid gland – an uncommon sentinel for diffuse metastatic disease: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2017;11(1):269. doi: 10.1186/s13256-017-1441-x.
5. Hegerova L, Griebeler ML, Reynolds JP, Henry MR, Gharib H. Metastasis to the thyroid gland: report of a large series from the Mayo Clinic. *Am J Clin Oncol.* 2015;38(4):338–42. doi: 10.1097/COC.0b013e31829d1d09.
6. Russell JO, Yan K, Burkey B, Scharpf J. Nonthyroid metastasis to the thyroid gland: case series and review with observations by primary pathology. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016;155(6):961–8. doi: 10.1177/0194599816655783.
7. Melis C, Ballaux F, Bourgain C. Curious residents of the thyroid gland: two case reports of colocolorectal carcinoma metastasis by fine-needle aspiration diagnosis. *Acta Cytol.* 2018;13:1–7. doi: 10.1159/000490367 [Epub ahead of print].
8. Lam KY, Lo CY. Metastatic tumors of the thyroid gland: a study of 79 cases in Chinese patients. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122(1):37–41.
9. Falcone R, Ramundo V, Lamartina L, Ascoli V, Bosco D, Di Gioia C, Montesano T, Biffoni M, Bononi M, Giacomelli L, Minni A, Segni M, Maranghi M, Cantisani V, Durante C, Grani G. Sonographic presentation of metastases to the thyroid gland: a case series. *J Endocr Soc.* 2018;2(8):855–9. doi: 10.1210/je.2018-00124.
10. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. World Health Organization Classification of Tumours of Endocrine Organs. 4th edition. WHO Classification of Tumours. Vol. 10. Lyon: IARC; 2017. 355 p.
11. Гервальд ВЯ, Климачев ВВ, Авдьян АМ, Иванов АА, Бобров ИП, Лепилов АВ, Черданцева ТМ, Мяделец МН, Лазарев АФ, Таранина ТС, Самуйленкова ОВ, Рагулина ВД. Рак щитовидной железы и методы его иммуногистохимической диагностики. *Фундаментальные исследования.* 2014;(10–10):1911–7 [Интернет]. Доступно на: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=36670> (дата обращения: 05.08.2018).

## References

1. Straccia P, Mosseri C, Brunelli C, Rossi ED, Lombardi CP, Pontecorvi A, Fadda G. Diagnosis and treatment of metastases to the thyroid gland: a meta-analysis. *Endocr Pathol.* 2017;28(2):112–20. doi: 10.1007/s12022-017-9475-6.
2. Chung AY, Tran TB, Brumund KT, Weisman RA, Bouvet M. Metastases to the thyroid: a review of the literature from the last decade. *Thyroid.* 2012;22(3):258–68. doi: 10.1089/thy.2010.0154.
3. Moghaddam PA, Cornejo KM, Khan A. Metastatic carcinoma to the thyroid gland: a single institution 20-year experience and review of the literature. *Endocr Pathol.* 2013;24(3):116–24. doi: 10.1007/s12022-013-9257-8.
4. Plonczak AM, DiMarco AN, Dina R, Gujral DM, Palazzo FF. Breast cancer metastases to the thyroid gland - an uncommon sentinel for diffuse metastatic disease: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep.* 2017;11(1):269. doi: 10.1186/s13256-017-1441-x.
5. Hegerova L, Griebeler ML, Reynolds JP, Henry MR, Gharib H. Metastasis to the thyroid gland: report of a large series from the Mayo Clinic. *Am J Clin Oncol.* 2015;38(4):338–42. doi: 10.1097/COC.0b013e31829d1d09.



6. Russell JO, Yan K, Burkey B, Scharpf J. Nonthyroid metastasis to the thyroid gland: case series and review with observations by primary pathology. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016;155(6): 961–8. doi: 10.1177/0194599816655783.
7. Melis C, Ballaux F, Bourgain C. Curious residents of the thyroid gland: two case reports of colorectal carcinoma metastasis by fine-needle aspiration diagnosis. *Acta Cytol.* 2018;13:1–7. doi: 10.1159/000490367 [Epub ahead of print].
8. Lam KY, Lo CY. Metastatic tumors of the thyroid gland: a study of 79 cases in Chinese patients. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122(1): 37–41.
9. Falcone R, Ramundo V, Lamartina L, Ascoli V, Bosco D, Di Gioia C, Montesano T, Biffoni M, Bononi M, Giacomelli L, Minni A, Segni M, Maranghi M, Cantisani V, Durante C, Grani G. Sonographic presentation of metastases to the thyroid gland: a case series. *J Endocr Soc.* 2018;2(8):855–9. doi: 10.1210/js.2018-00124.
10. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. *World Health Organization Classification of Tumours of Endocrine Organs.* 4<sup>th</sup> edition. WHO Classification of Tumours. Vol. 10. Lyon: IARC; 2017. 355 p.
11. Gerval'd VJ, Klimachev VV, Avdaljan AM, Ivanov AA, Bobrov IP, Lepilov AV, Cherdantseva TM, Mjadelc MN, Lazarev AF, Taranina TS, Samujlenkova OV, Ragulina VD. The thyroid cancer and its immunohistochemical diagnosis. *Fundamental Research.* 2014;(10–10):1911–7 [Internet]. Available from: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=36670> (accessed: 05.08.2018). Russian.

## Clinical observation of metastatic thyroid disease in a patient with breast cancer

E.V. Bondarenko<sup>1</sup> • L.E. Gurevich<sup>1</sup> • I.V. Kotova<sup>1</sup>

Metastatic tumors of the thyroid gland (TG) are rare. Usually thyroid gland metastases originate from renal, lung, skin and gastrointestinal cancers. Breast cancer metastases are more rare and in various samples amount to 3 to 34% of all cases of the metastatic thyroid disease. We present a rare case of metastatic carcinomatosis into the thyroid goiter in a 63-year old female patient who has received combination therapy for breast cancer. In 2016, right-sided mastectomy was performed due to the right breast cancer (invasive carcinoma, non-specific type, Grade 2, with skin invasion) with subsequent four chemotherapy courses. A slowly growing nodule in the thyroid gland was first found in 2012; in 2017, fine needle aspiration biopsy was performed, which showed a follicular tumor that resulted in thyroidectomy. At the histological examination, against the background of thyroid goiter, multiple small lesions with advanced nuclear polymorphism were found, with doubtful diagnosis. To clarify the histogenesis of the tumor lesions, immunohistochemical assessment was

performed. Its first phase included the markers of primary thyroid tumors (thyroglobulin, TTF-1), and the second one consisted of the breast cancer diagnostic panel (mammoglobin, GATA-3, estrogen and progesterone receptors). The results showed multiple small metastases of the invasive breast carcinoma of non-specific type into the thyroid goiter. Taking into account eventual problems of differential diagnosis and significant morphological polymorphism of thyroid tumors, we recommend extending of the immunohistochemistry panel in this patient category.

**Key words:** thyroid gland, metastasis, breast cancer, immunohistochemistry

**For citation:** Bondarenko EV, Gurevich LE, Kotova IV. Clinical observation of metastatic thyroid disease in a patient with breast cancer. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(4):379–83. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-379-383.

Received 2 April 2018; accepted 28 July 2018

**Ekaterina V. Bondarenko** – Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>  
✉ 61/2–13 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (916) 177 99 97. E-mail: [ekaterinabondarenko@inbox.ru](mailto:ekaterinabondarenko@inbox.ru)

**Larisa E. Gurevich** – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy<sup>1</sup>

**Irina V. Kotova** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Endocrine Surgery<sup>1</sup>

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation



Клиническое наблюдение

# Меланома хориоидеи, симулирующая опухоль зрительного нерва: клинический случай

Амирян А.Г.<sup>1</sup> • Пантелеева О.Г.<sup>1</sup> • Майбогин А.М.<sup>1</sup> • Цыганков А.Ю.<sup>1</sup> • Саакян С.В.<sup>1</sup>

Меланома хориоидеи – первичная злокачественная внутриглазная опухоль с плохим витальным прогнозом. К факторам, предрасполагающим к прорастанию меланомы хориоидеи в зрительный нерв, относят юкстапапиллярную локализацию, большие размеры опухоли, ее диффузный рост, наличие некрозов в опухоли, повышенное внутриглазное давление и эпителиоидный клеточный тип опухоли. Авторы приводят описание клинического случая пациентки 31 года с первичным диагнозом опухоли зрительного нерва. При офтальмоскопии выявлен выраженный перипапиллярный отек, нечеткие границы диска зрительного нерва. У диска зрительного нерва определялось слегка проминирующее образование серо-аспидного цвета с нечеткими границами. Визуализировалась отечная сетчатка и множественные сливные геморрагии. Данные эхографии (проминенция очага как внутри глаза, так и по стволу зрительного нерва), цветового доплеровского картирования (единичные собственные сосуды в проекции орбитальной

части образования) и компьютерной томографии позволили заподозрить первичную меланому хориоидеи. Для уточнения характера процесса проведена трансконъюнктивная орбитотомия с ревизией орбиты и зрительного нерва. Интраоперационно выявлено расширение проксимальной части зрительного нерва с частичным прорывом его оболочек, большой проведена энуклеация с морфологической и молекулярно-генетической верификацией первичной меланомы хориоидеи с инвазией в зрительный нерв. Полученные данные (отсутствие моносомии хромосомы 3, делеция короткого плеча хромосомы 1, метилирование промоторных районов гена *RASSF1A*, мутации в 4 и 5-м экзоне гена *GNAQ*, генотип *CT* полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1*) свидетельствуют об относительно благоприятном витальном прогнозе, несмотря на прорастание опухоли за пределы глаза и смешанноклеточный ее тип. Пациентке проведен курс противорецидивного протонного облучения орбиты суммарной дозой 58,8 Гр по 80–90% изодозе.

В настоящее время, спустя 7 лет после лечения, больная находится под динамическим наблюдением офтальмологов и онкологов без признаков локального рецидива и отдаленных метастазов. Данный клинический пример демонстрирует возможность экстрабульбарного роста малой внутриглазной меланомы хориоидеи и симуляции опухоли зрительного нерва, а также подтверждает необходимость тщательного клиничко-инструментального обследования для постановки правильного диагноза и адекватного ведения больного.

**Ключевые слова:** увеальная меланома, меланома хориоидеи, инвазия зрительного нерва

**Для цитирования:** Амирян АГ, Пантелеева ОГ, Майбогин АМ, Цыганков АЮ, Саакян СВ. Меланома хориоидеи, симулирующая опухоль зрительного нерва: клинический случай. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):384–9. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-384-389.

Поступила 25.04.2018;  
принята к публикации 11.05.2018

**М**еланома хориоидеи – первичная злокачественная внутриглазная опухоль с плохим витальным прогнозом. Она достаточно долго может находиться в полости глаза. Экстрабульбарный ее рост чаще всего имеет место при юкстапапиллярной локализации опухоли через эмиссарии подлежащей склеры. Инвазия меланомы хориоидеи в зрительный нерв и его оболочки – крайне редкое явление, которое наблюдается только в 0,6–5,7% случаев

[1–3]. Меланомы хориоидеи, локализующиеся вблизи диска зрительного нерва, чаще всего окружают диск зрительного нерва или распространяются на него, однако реже инфильтрируют при этом зрительный нерв. К факторам, предрасполагающим к прорастанию опухоли в зрительный нерв, относят большие ее размеры, диффузный рост, наличие в ней некрозов, повышенное внутриглазное давление и эпителиоидный клеточный тип опухоли [4–7].

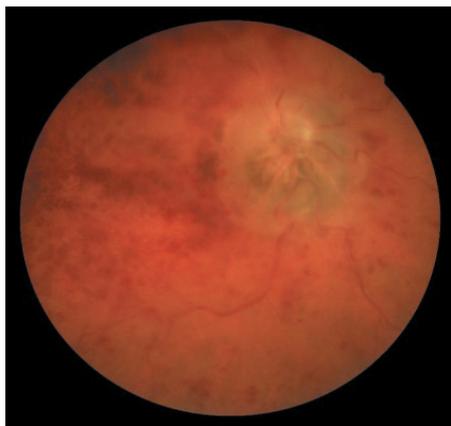


Рис. 1. Состояние глазного дна по данным офтальмоскопии



Рис. 2. Визуализация гипоэхогенного образования с четкими границами по данным эхографии

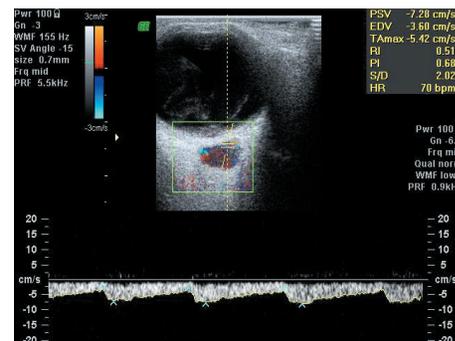


Рис. 3. Определение единичных собственных сосудов образования в режиме цветного доплеровского картирования

## Клиническое наблюдение

Пациентка в возрасте 31 года направлена в нашу клинику с диагнозом первичной опухоли зрительного нерва справа. Из анамнеза известно, что 2 года назад появилось снижение зрения правого глаза, периодические боли в глазу. При обследовании по месту жительства проведена магнитно-резонансная томография головного мозга, установлен диагноз «неврит зрительного нерва», по поводу чего получала комплексное медикаментозное лечение без положительного эффекта. Зрение продолжало прогрессивно снижаться, и при очередном осмотре по месту жительства диагностирована опухоль зрительного нерва. Больная направлена на консультацию в нашу клинику. При осмотре установлено отсутствие зрения правого глаза (ноль), зрение левого глаза 1,0. Внутриглазное давление обоих глаз в пределах нормы, передний отрезок глаза без видимой патологии, легкая асимметрия в выстоянии глаза OD/OS = 16,5/15 мм, подвижность глаз в полном объеме. При офтальмоскопии выявлен выраженный перипапиллярный отек, границы диска зрительного нерва нечеткие, сосуды сужены, извилисты, неравномерного калибра. У диска зрительного нерва, преимущественно снизу и с внутренней стороны (почти анулярно, за исключением верхне-наружного квадранта), визуализировалось слегка проминирующее образование серо-аспидного цвета с нечеткими границами. Сетчатка отечная, по всему глазному дну определялись множественные сливные геморрагии (рис. 1).

Данные ультразвукового исследования позволили в режиме В-сканирования выявить расширение проксимальной части зрительного нерва, а также проминирующее внутриглазное образование толщиной 2,1 мм

**Амирян Ануш Гамлетовна** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>  
 ✉ 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 608 41 44. E-mail: amiryau@yandex.ru

**Пантелеева Ольга Геннадьевна** – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

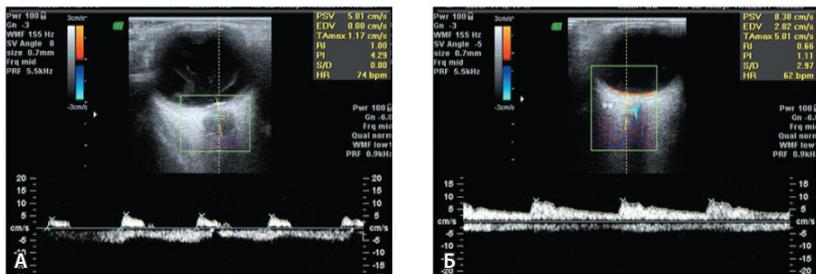
**Майбогин Артемий Михайлович** – врач-патологоанатом отдела патологической анатомии и гистологии<sup>1</sup>

**Цыганков Александр Юрьевич** – канд. мед. наук, мл. науч. сотр. отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

**Саакян Светлана Владимировна** – д-р мед. наук, профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии<sup>1</sup>

и основанием 5,9 мм и примыкающий к стволу зрительного нерва гипоэхогенный узел опухоли с четкими границами размерами 8,6×5,5 мм, деструкцию стекловидного тела (рис. 2). В режиме цветного доплеровского картирования определялись единичные собственные сосуды в проекции орбитальной части образования (рис. 3). При регистрации скоростных показателей кровотока глаза в центральной артерии сетчатки они были ниже, чем на здоровой стороне (рис. 4А, Б), а гемодинамические характеристики в глазной артерии оказались симметричными с обеих сторон. Компьютерная томография глаза и орбит показала расширение проксимальной части зрительного нерва (рис. 5). С учетом нетипичной клинической картины и данных инструментального обследования дифференциальный диагноз проводили с начальной юкстапапиллярной меланомой хориоидеи с массивным экстрабульбарным ростом и опухолью зрительного нерва. Для уточнения характера процесса проведена трансконъюнктивная орбитотомия с ревизией орбиты и зрительного нерва. Интраоперационно выявлено расширение проксимальной части зрительного нерва с частичным прорывом его оболочек, больной проведена энуклеация. Материал отправлен на гистологическое исследование, которое подтвердило клинический диагноз. Патологоанатомическое заключение: узловатая пигментированная смешанноклеточная меланома хориоидеи (с преобладанием веретенновидных клеток) юкстапапиллярной локализации. Определялась опухолевая инвазия в диск зрительного нерва с продолженным ростом в ствол через решетчатую пластинку и прорастание склеры в заднем отрезке с формированием очагов экстрабульбарного роста по периферии ствола

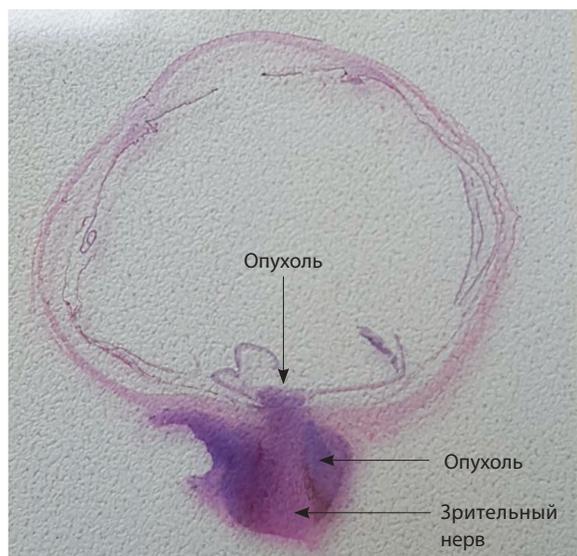
<sup>1</sup> ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России; 105062, г. Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19, Российская Федерация



**Рис. 4.** Регистрация скоростных показателей кровотока в центральной артерии сетчатки OD (А) и OS (Б)



**Рис. 5.** Компьютерная томография орбит. Стрелками отмечено расширение проксимальной части зрительного нерва



**Рис. 6.** Юкстапапиллярная меланома хориоидеи с экстрабульбарным ростом по периферии ствола зрительного нерва. Окраска гематоксилином и эозином, объектив  $\times 10$

зрительного нерва до линии отсечения зрительного нерва. В зоне экстрабульбарного узла отмечена инвазия опухоли в оболочки и ствол зрительного нерва (рис. 6).

Морфологической особенностью опухолевого роста в данном случае было диффузное поражение зрительного нерва как со стороны диска зрительного нерва, так и в зоне экстрабульбарного узла. В зоне инфильтрации ствола зрительного нерва отмечена массивная инфильтрация с прорастанием всех оболочек и наличием очагов-отсевов в периневральных пространствах. При этом в стволе зрительного нерва обнаруживались множественные пигментированные

комплексы опухолевых клеток с признаками очаговой перифокальной воспалительной инфильтрации (рис. 7, 8).

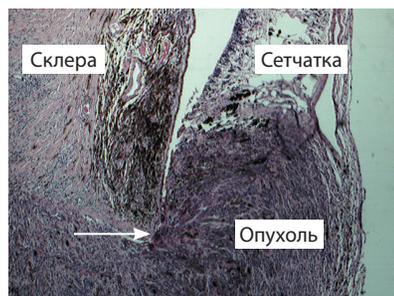
После выполнения энуклеации образец ткани взят для проведения цито- и молекулярно-генетического исследования. Образец был исследован на панели микросателлитных локусов, состоящей из 17 маркеров, находящихся на 1, 3 и 8-й хромосоме, а также на наличие метилирования в гене *RASSF1A* при помощи анализа с применением метилчувствительных рестриктаз. В гене *ABCBI/MDR1* исследован полиморфный маркер *C3435T* (в 26-м экзоне), изучены мутации в гене *GNAQ* и его паралоге *GNA11* (*Q209L*, *ex5*; *R183C*, *ex4*). Полученные данные свидетельствовали об отсутствии моносомии хромосомы 3, одного из наиболее неблагоприятных генетических факторов у пациентов с увеальной меланомой [8]. Вместе с тем у пациентки выявлена делеция короткого плеча хромосомы 1 и единичные делеции хромосом 3 и 8, что, безусловно, говорит о наличии увеальной меланомы. Результаты показали наличие метилирования промоторного района гена *RASSF1A* по рестриктазе *hpaII* в опухоли, что ассоциировано с благоприятным витальным прогнозом [8]. По данным молекулярно-генетического анализа определены мутации в 4 и 5-м экзоне гена *GNAQ*, которые указывают на наличие у пациентки злокачественного меланоцитарного новообразования сосудистой оболочки глаза. При оценке полиморфизма гена *ABCBI/MDR1* выявлен генотип *CT* полиморфного маркера *C3435T*, характерный для более спокойного течения опухолевого процесса [9]. Полученные данные свидетельствуют об относительно благоприятном витальном прогнозе, несмотря на прорастание опухоли за пределы глаза и смешанноклеточный ее тип.

Учитывая данные патогистологического заключения, больной проведен курс противорецидивного протонного облучения орбиты суммарной дозой 58,8 Гр по 80–90% изодозе. В настоящее время, спустя 7 лет после лечения, больная находится под динамическим наблюдением офтальмологов и онкологов без признаков локального рецидива и отдаленных метастазов.

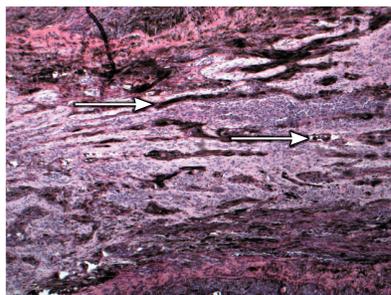
## Обсуждение

Прорастание меланомы хориоидеи за пределы глазного яблока традиционно оценивается как неблагоприятный прогностический признак, значительно ухудшающий витальный прогноз пациента [10, 11]. Лечение таких пациентов зачастую сопряжено с проведением энуклеации, а случаи органосохраняющего лечения редки и ассоциированы с ограниченным прорастанием опухоли в виде единичных узелков [12].

Из внутриглазных опухолей инвазия в зрительный нерв более характерна для ретинобластомы,



**Рис. 7.** Инвазия опухоли в диск зрительного нерва с продолженным ростом за решетчатую пластинку (обозначено стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином, объектив  $\times 40$



**Рис. 8.** Опухолевая инфильтрация ствола зрительного нерва в зоне экстрабульбарного узла с прорастанием через оболочки зрительного нерва и формированием очагов-отсевов в межоболочечном пространстве. Комплексы опухолевых клеток в стволе зрительного нерва, разделенные фиброзными септами (указано стрелками). Окраска гематоксилином и эозином, объектив  $\times 60$

нежели для меланомы. По данным исследования COMS, частота инвазии зрительного нерва и его оболочек при больших опухолях составляет 10%, при средних – менее 1% [13]. Данные для малых меланом недоступны в связи с казуистичностью подобных случаев.

Случаи инвазии меланомы хориоидеи, симулирующей первичную опухоль зрительного нерва, редки и заслуживают отдельного внимания. Анализ литературы показал лишь единичные публикации схожих наблюдений. С.Л. Shields и соавт. [14] описали два собственных наблюдения пациентов с небольшими пигментированными юкстапапиллярными очагами, при этом изначальный диагноз в обоих случаях соответствовал первичной опухоли зрительного нерва. После проведения магнитно-резонансной томографии и более детального офтальмологического обследования была рекомендована расширенная энуклеация с определением увеальной меланомы и признаков компрессии зрительного нерва [14]. Полученные нами данные полностью подтверждают результаты С.Л. Shields и соавт. Помимо этого в настоящей работе проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование полученного материала. По данным А.С. Стоюхиной [3], частота инвазии меланомы хориоидеи в зрительный нерв составила 3,66% (на основании ретроспективного анализа 328 историй болезни пациентов), при этом в большинстве случаев отмечалась преламинарная и ламинарная инвазия опухоли при опухолях юкстапапиллярной локализации. В указанной работе большинство опухолей имели веретенноклеточный

тип строения, тогда как в нашем исследовании отмечен более неблагоприятный смешанноклеточный тип. В то же время автор указывает на относительно благоприятный (выживаемость более 5 лет) витальный прогноз у пациентов с юкстапапиллярной меланомой хориоидеи, несмотря на ее выход за пределы решетчатой пластинки [3]. Обследованная нами пациентка жива и не имеет рецидивов или отдаленных метастазов меланомы хориоидеи в течение 7 лет, что связано, вероятно, с благоприятным молекулярно-генетическим профилем опухоли.

Подробный анализ механизмов инвазии первичной меланомы хориоидеи в зрительный нерв приводят Е. Szalai и соавт. [6]. Всего в исследование включен 21 пациент. В подавляющем большинстве случаев (86%) определена юкстапапиллярная локализация меланомы хориоидеи. Авторы сообщают о четырех путях инвазии в зрительный нерв: транзитреальном (10%), ретинальном (23%), непосредственно юкстапапиллярном (57%) и смешанном (10%). Инвазия зрительного нерва в 67% случаев была преламинарная, в 10% – ламинарная и в 23% – постламинарная. Аналогичные механизмы инвазии приводят J. Lindegaard и соавт. [2]. Исследователи указывают на большую частоту неверетенноклеточных меланом хориоидеи при наличии ретроламинарной инвазии опухоли. В нашем клиническом примере описана постламинарная инвазия по юкстапапиллярному механизму, обуславливающая сходство меланомы хориоидеи с первичной опухолью зрительного нерва, а сама опухоль соответствовала смешанноклеточному типу.

Офтальмоскопически определяемые циркуляторные расстройства (см. рис. 1) подтверждаются результатами ультразвукового доплеровского исследования гемодинамических характеристик кровотока в центральной артерии сетчатки, заключающимися в выраженной их депрессии на стороне поражения по сравнению со здоровой стороной (см. рис. 4).

Важной морфологической особенностью в нашем случае помимо роста опухоли в ствол зрительного нерва опухолевыми клетками был факт инфильтрации всех ее оболочек и наличие очагов-отсевов в периневральном пространстве. Отсутствие локального рецидива опухоли в орбите у больной на протяжении 7 лет наблюдения демонстрирует эффективность постхирургического протонного облучения орбиты.

Таким образом, представленное клиническое наблюдение заслуживает внимания с нескольких ключевых позиций. Во-первых, отмечен



экстрабульбарный рост малой по размерам меланомы хориоидеи, что является казуистическим случаем. Во-вторых, опухоль инфильтрировала ствол зрительного нерва. Как показывают данные литературы, даже в случае экстрабульбарного роста меланомы хориоидеи у диска зрительного нерва ее инфильтрация – крайне редкое явление. В-третьих, своеобразная клиническая картина и данные инструментального исследования могут вызвать затруднения в постановке правильного диагноза. В-четвертых, проведенный молекулярно-генетический анализ показал отсутствие моносомии хромосомы 3 в клетках опухоли, чем, возможно, и обусловлено отсутствие генерализации процесса в течение семи-летнего наблюдения, несмотря на агрессивный характер роста опухоли.

## Литература

1. Blanco G. Diagnosis and treatment of orbital invasion in uveal melanoma. *Can J Ophthalmol*. 2004;39(4):388–96. doi: 10.1016/S0008-4182(04)80010-3.
2. Lindegaard J, Isager P, Prause JU, Heegaard S. Optic nerve invasion of uveal melanoma: clinical characteristics and metastatic pattern. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(8):3268–75. doi: 10.1167/iovs.05-1435.
3. Стоюхина АС. Юкстапапиллярная меланома хориоидеи. Опухоли головы и шеи. 2012;(2): 42–4. doi: 10.17650/2222-1468-2012-0-2-42-44.
4. De Potter P, Shields CL, Eagle RC Jr, Shields JA, Lipkowitz JL. Malignant melanoma of the optic nerve. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(5):608–12. doi: 10.1001/archophth.1996.01100130600020.
5. Lim LA, Miyamoto C, Blanco P, Bakalian S, Burnier MN Jr. Case report: an atypical peripapillary uveal melanoma. *BMC Ophthalmol*. 2014;14:13. doi: 10.1186/1471-2415-14-13.
6. Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE. Mechanisms of optic nerve invasion in primary

- choroidal melanoma. *Ocul Oncol Pathol*. 2017;3(4):267–75. doi: 10.1159/000456718.
7. Chess J, Albert DM, Bellows AR, Dallow R. Uveal melanoma: case report of extension through the optic nerve to the surgical margin in the orbital apex. *Br J Ophthalmol*. 1984;68(4):272–5. doi: 10.1136/bjo.68.4.272.
8. Саакян СВ, Амирян АГ, Цыганков АЮ, Склярова НВ, Залетаев ДВ. Клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические особенности увеальной меланомы с высоким риском метастазирования. *Российский офтальмологический журнал*. 2015;(2):47–52.
9. Саакян СВ, Амирян АГ, Цыганков АЮ, Логинов ВИ, Бурденный АМ. Ассоциация гена ABCB1 с риском развития увеальной меланомы. *Архив патологии*. 2014;76(2):3–7.
10. Romanowska-Dixon B, Jakubowska B. Choroidal melanoma – routes of extraocular extension. *Klin Oczna*. 2013;115(2):107–10.
11. Цыганков АЮ, Амирян АГ, Саакян СВ. Роль патоморфологических и молекуляр-

- но-генетических факторов в развитии экстрабульбарного роста увеальной меланомы. *Современные технологии в медицине*. 2016;8(2):76–83. doi: 10.17691/stm2016.8.2.11.
12. Augsburger JJ, Schneider S, Narayana A, Breneman JC, Aron BS, Barrett WL, Trichopoulos N. Plaque radiotherapy for choroidal and ciliochoroidal melanomas with limited nodular extrascleral extension. *Can J Ophthalmol*. 2004;39(4):380–7. doi: 10.1016/S0008-4182(04)80009-7.
13. Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study. *COMS report no. 6. Am J Ophthalmol*. 1998;125(6):745–66. doi: 10.1016/S0002-9394(98)00040-3.
14. Shields CL, Santos MC, Shields JA, Singh AD, Eagle RC Jr. Extraocular extension of unrecognized choroidal melanoma simulating a primary optic nerve tumor: report of two cases. *Ophthalmology*. 1999;106(7):1349–52. doi: 10.1016/S0161-6420(99)00723-X.

## References

1. Blanco G. Diagnosis and treatment of orbital invasion in uveal melanoma. *Can J Ophthalmol*. 2004;39(4):388–96. doi: 10.1016/S0008-4182(04)80010-3.
2. Lindegaard J, Isager P, Prause JU, Heegaard S. Optic nerve invasion of uveal melanoma: clinical characteristics and metastatic pattern. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(8):3268–75. doi: 10.1167/iovs.05-1435.
3. Stoyukhina AS. Juxtapapillary choroidal melanoma. *Head and Neck Tumors (HNT)*. 2012;(2):

- 42–4. Russian. doi: 10.17650/2222-1468-2012-0-2-42-44.
4. De Potter P, Shields CL, Eagle RC Jr, Shields JA, Lipkowitz JL. Malignant melanoma of the optic nerve. *Arch Ophthalmol*. 1996;114(5):608–12. doi: 10.1001/archophth.1996.01100130600020.
5. Lim LA, Miyamoto C, Blanco P, Bakalian S, Burnier MN Jr. Case report: an atypical peripapillary uveal melanoma. *BMC Ophthalmol*. 2014;14:13. doi: 10.1186/1471-2415-14-13.

6. Szalai E, Wells JR, Grossniklaus HE. Mechanisms of optic nerve invasion in primary choroidal melanoma. *Ocul Oncol Pathol*. 2017;3(4):267–75. doi: 10.1159/000456718.
7. Chess J, Albert DM, Bellows AR, Dallow R. Uveal melanoma: case report of extension through the optic nerve to the surgical margin in the orbital apex. *Br J Ophthalmol*. 1984;68(4):272–5. doi: 10.1136/bjo.68.4.272.
8. Saakyan SV, Amiryany AG, Tsygankov AYU, Sklyarova NV, Zaletaev DV. Clinical, pathomor-

## Заключение

Мы описали редкий случай первичной меланомы хориоидеи юкстапапиллярной локализации, прорастающей в ствол и оболочки зрительного нерва через решетчатую пластинку, симулирующей опухоль зрительного нерва. Представлены офтальмоскопические, эхографические, томографические, патоморфологические и молекулярно-генетические особенности опухоли. Данный клинический пример демонстрирует возможность экстрабульбарного роста малой внутриглазной меланомы хориоидеи и симуляции опухоли зрительного нерва, подтверждает необходимость тщательного клинико-инструментального обследования для постановки правильного диагноза и адекватного ведения больного. ©

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.



- phological and molecular genetic aspects of uveal melanoma with high metastatic risk. Russian Ophthalmological Journal. 2015;(2): 47–52. Russian.
9. Saakyan SV, Amiryany AG, Tsygankov AYu, Loginov VI, Burdennyi AM. Association of the ABCB1 gene with risk for uveal melanoma. Arkhiv patologii. 2014;76(2):3–7. Russian.
10. Romanowska-Dixon B, Jakubowska B. Choroidal melanoma – routes of extraocular extension. Klin Oczna. 2013;115(2):107–10.
11. Tsygankov Alu, Amiryany AG, Saakyan SV. The role of pathologic and molecular genetic factors in development of uveal melanoma extrabulbar growth. Sovremennye tehnologii v medicine. 2016;8(2):76–83. doi: 10.17691/stm2016.8.2.11.
12. Augsburger JJ, Schneider S, Narayana A, Brennan JC, Aron BS, Barrett WL, Trichopoulos N. Plaque radiotherapy for choroidal and ciliochoroidal melanomas with limited nodular extrascleral extension. Can J Ophthalmol. 2004;39(4): 380–7. doi: 10.1016/S0008-4182(04)80009-7.
13. Histopathologic characteristics of uveal melanomas in eyes enucleated from the Collaborative Ocular Melanoma Study. COMS report no. 6. Am J Ophthalmol. 1998;125(6):745–66. doi: 10.1016/S0002-9394(98)00040-3.
14. Shields CL, Santos MC, Shields JA, Singh AD, Eagle RC Jr. Extraocular extension of unrecognized choroidal melanoma simulating a primary optic nerve tumor: report of two cases. Ophthalmology. 1999;106(7):1349–52. doi: 10.1016/S0161-6420(99)00723-X.

## Choroidal melanoma, simulating an optic nerve tumor: a clinical case

A.G. Amiryany<sup>1</sup> • O.G. Panteleeva<sup>1</sup> • A.M. Maybogin<sup>1</sup> • A.Yu. Tsygankov<sup>1</sup> • S.V. Saakyan<sup>1</sup>

Choroidal melanoma is a primary malignant intraocular tumor with unfavorable vital prognosis. Factors predisposing to invasion of choroidal melanoma into the optic nerve include its juxtapapillary localization, the large tumor size, its diffuse growth, the presence of necrosis in the tumor, increased intraocular pressure and the epithelioid cell type of the tumor. The authors describe the clinical case of a 31-year-old patient with a primary diagnosis of an optic nerve neoplasm. Peripapillary edema and indistinct optic disc margins were found by ophthalmoscopy. There was a slightly protruding gray-slate lesion with indistinct boundaries near the optic nerve disc. The retina was edematous with multiple merging hemorrhages. The data obtained by echography (the focus protruding both inside the eye and along the optic nerve trunk), color Doppler mapping (single own vessels in the projection of the orbital part of the mass) and computed tomography allowed for the suspicion of the primary choroidal melanoma. To clarify the nature of the process, a trans-conjunctival orbitotomy with a revision of the orbit and the optic nerve was performed. The expansion of the proximal part of the optic nerve with partial breakthrough of the optic nerve shells was revealed intraoperatively. The patient underwent enucleation with morphological and molecular genetic verification of the primary choroidal melanoma with invasion of the optic nerve. The data

obtained (absence of chromosome 3 monosomy, deletion of the short arm of chromosome 1, methylation of promoter regions of the *RASSF1A* gene, mutations in the 4 and 5 exons of the *GNAQ* gene, *CT* genotype of the polymorphic marker *C3435T* of the *ABCB1* gene) indicate a relatively favorable vital prognosis, despite the extrascleral growth of the tumor and its mixed cell type. The patient underwent a course of anti-relapse proton irradiation of the orbit with a total dose of 58.8 Gy at 80–90% isodose. Currently, 7 years after the treatment, the patient continues to be followed up by ophthalmologists and oncologists, without any signs of local recurrence and distant metastases. This clinical example demonstrates the possibility of extraocular extension of a small intraocular choroidal melanoma simulating an optic nerve tumor, and confirms the need for a thorough clinical and instrumental examination for a correct diagnosis and adequate management of the patient.

**Key words:** uveal melanoma, choroidal melanoma, optic nerve invasion

**For citation:** Amiryany AG, Panteleeva OG, Maybogin AM, Tsygankov AYu, Saakyan SV. Choroidal melanoma, simulating an optic nerve tumor: a clinical case. Almanac of Clinical Medicine. 2018;46(4):384–9. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-384-389.

Received 25 April 2018; accepted 11 May 2018

**Anush G. Amiryany** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

✉ 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 608 41 44. E-mail: amiryany@yandex.ru

**Olga G. Panteleeva** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

**Artemiy M. Maybogin** – MD, Pathologist, Department of Pathological Anatomy and Histology<sup>1</sup>

**Alexander Yu. Tsygankov** – MD, PhD, Junior Research Fellow, Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

**Svetlana V. Saakyan** – MD, PhD, Professor, Head of Department of Ophthalmic Oncology and Radiology<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases; 14/19 Sadovaya-Chernogryazskaya ul., Moscow, 105062, Russian Federation

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests related to the study.



Клинические наблюдения

# Саркома Капоши с поражением век (6 клинических случаев)

Гришина Е.Е.<sup>1</sup>

Саркома Капоши – многофокусная опухоль из эндотелия сосудов с низкой степенью злокачественности, возникающая на фоне иммунодефицита и ассоциированная с вирусом герпеса 8-го типа. Саркома Капоши с поражением век наблюдается редко, и диагностика этой патологии вызывает затруднения как у офтальмологов, так и у онкодерматологов. В статье описаны 6 клинических случаев саркомы Капоши с вовлечением в патологический процесс век. У трех больных возник СПИД-ассоциированный тип опухоли. У одного пациента развился иммуносупрессивный тип на фоне приема иммунодепрессантов после пересадки почки. У двух больных пожилого возраста имелся классический тип

саркомы Капоши. Опухоли век возникли через несколько лет после поражения кожи конечностей. Во всех наблюдениях была развита (нодулярная) стадия саркомы Капоши век, в то время как поражение кожи конечностей было в виде пятен или папул (пятнистая или папулезная, начальная стадия заболевания). Опухоль кожи век выглядела как обширный опухолевый узел темно-красного цвета, четко отграниченный от окружающих тканей. Во всех случаях опухоль век была значительных размеров и мешала обзору. Все больные получали лечение у онкодерматолога и/или инфекциониста в зависимости от клинического типа заболевания. Саркома Капоши редко поражает кожу или конъюнктиву

век, однако у больных с иммунодефицитом она должна быть включена в дифференциально-диагностический ряд опухолей век.

**Ключевые слова:** опухоли век, саркома Капоши, классическая, СПИД, иммунодепрессанты, пересадка почки, взрослые, диагностика

**Для цитирования:** Гришина ЕЕ. Саркома Капоши с поражением век (6 клинических случаев). Альманах клинической медицины. 2018;46(4):390–4. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-390-394.

Поступила 14.06.2018;

принята к публикации 24.06.2018

**Гришина Елена Евгеньевна** – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотр. офтальмологического отделения<sup>1</sup>  
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–11, Российская Федерация. Тел.: +7 (905) 703 18 63. E-mail: eyelena@mail.ru

**С**аркома Капоши – многофокусная опухоль из эндотелия сосудов с низкой степенью злокачественности, возникающая на фоне иммунодефицита и ассоциированная с вирусом герпеса 8-го типа. Преимущественно опухоль развивается на коже и слизистых оболочках, однако возможно поражение любого органа [1]. Различают четыре клинических типа саркомы Капоши: классический, африканский (эндемичный), СПИД-ассоциированный и иммуносупрессивный (в том числе ятрогенный) [2]. Саркома Капоши встречается в любом возрасте.

В настоящее время отмечается рост заболеваемости саркомой Капоши. Это происходит за счет как СПИД-ассоциированного типа, что связано с увеличением количества ВИЧ-инфицированных пациентов с поздней диагностикой, так и идиопатического и иммуносупрессивного типов, что, по-видимому, обусловлено нарастанием иммуносупрессирующих воздействий различного характера (лекарственного, экологического, социального и др.). Для СПИД-ассоциированной саркомы Капоши характерно

агрессивное течение и вовлечение в процесс не только кожи и слизистых оболочек, но и внутренних органов [3, 4]. В литературе имеются сведения о развитии саркомы Капоши с поражением пальпебральной конъюнктивы в качестве первой манифестации СПИДа [5–7]. Классический тип саркомы Капоши развивается медленно и неагрессивно, но сегодня клинические проявления заболевания становятся менее типичными [8].

Изолированное поражение кожи или конъюнктивы век в качестве первого проявления заболевания встречается крайне редко [9]. В этих случаях онкодерматологи испытывают затруднения в установлении диагноза. В свою очередь, офтальмологи, не имея привычки изучать «внеглазные» поражения кожи и слизистых, ошибочно диагностируют саркому Капоши с вовлечением век как воспалительные заболевания: ячмень или халязион с грануляционным полипом.

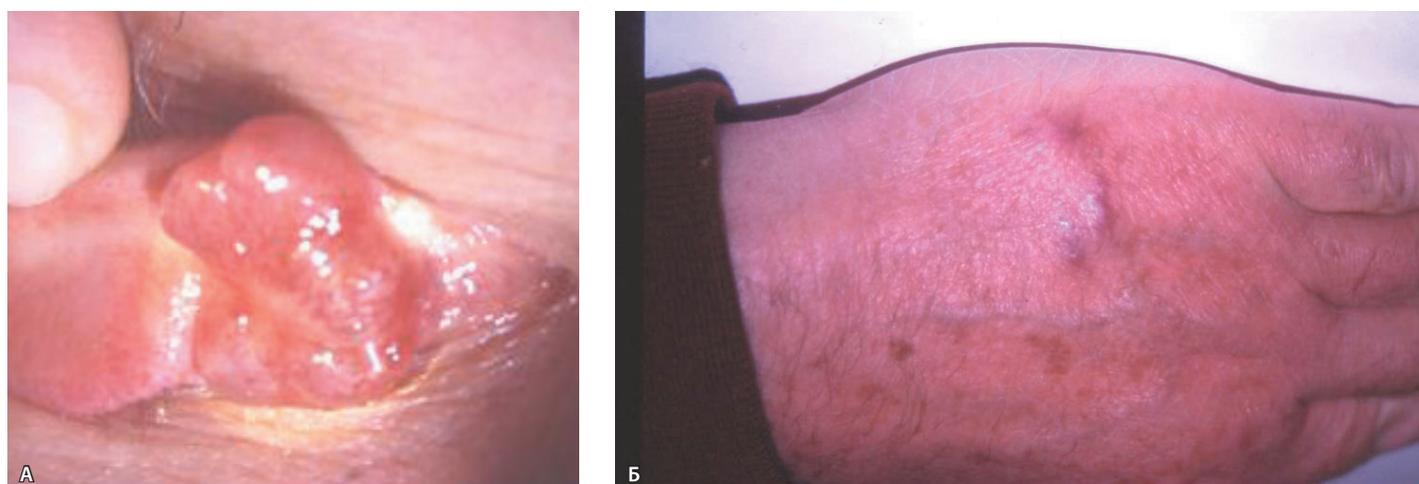
## Клинические наблюдения

Представляем 6 клинических случаев саркомы Капоши с поражением век. Среди наших пациентов было

<sup>1</sup> ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация



**Рис. 1.** Больной 19 лет. Саркома Капоши, СПИД-ассоциированный тип: **А** – поражение верхнего века левого глаза, **Б** – опухоли кожи правого плеча



**Рис. 2.** Больной 67 лет. Саркома Капоши, иммуносупрессивный тип, посттрансплантационная форма: **А** – опухоль конъюнктивы верхнего века левого глаза, **Б** – опухоли тыльной поверхности кисти правой руки

4 мужчин в возрасте 19, 24, 33 и 67 лет. Молодые мужчины 19, 24 и 33 лет были ВИЧ-инфицированы. У двух мужчин ВИЧ-инфекция была диагностирована после появления опухоли век и антиретровирусную терапию они не получали, один пациент самостоятельно прервал высокоактивную антиретровирусную терапию в связи с изменением места жительства. Опухоль верхнего века у больных СПИДом возникла одновременно с поражением кожи и слизистой ротовой полости и характеризовалась быстрыми темпами роста (рис. 1).

У мужчины 67 лет саркома Капоши медленно развивалась на фоне приема иммунодепрессантов после пересадки почки (рис. 2).

Две женщины 56 и 83 лет имели классический тип саркомы Капоши. Они отмечали медленное формирование узловой формы опухоли век на фоне уже имеющихся изменений кожи конечностей (рис. 3). У пациентки 83 лет обширный узел опухоли верхнего века закрывал лучше видящий правый глаз, что отрицательно сказывалось на качестве ее жизни и привело к необходимости радиоволновой эксцизии опухолевого узла.

У четырех больных имелось одностороннее поражение кожи верхнего века, у одной пациентки – одностороннее поражение кожи обоих век, еще у одного больного была односторонняя опухоль



**Рис. 3.** Больная 56 лет. Саркома Капоши век, классический тип, хроническая форма: **А** – опухоли век правого глаза, **Б** – опухоли тыльной поверхности кистей рук

конъюнктивы верхнего века. У всех пациентов опухоль была столь значительных размеров, что мешала обзору. Опухоль кожи век выглядела как обширный опухолевый узел темно-красного цвета, четко отграниченный от окружающих тканей.

У четырех пациентов – у двух больным СПИДом, у больного с посттрансплантационной формой иммуносупрессивного типа и у одной больной с классическим типом саркомы Капоши – было проведено удаление опухоли с последующим гистологическим исследованием материала. Гистологическая картина характеризовалась наличием новообразованных

сосудов и обилием веретенообразных клеток. Полимеразная цепная реакция выявила вирус герпеса человека 8-го типа.

У остальных двух больных диагноз саркомы Капоши век был установлен с учетом данных анамнеза (диагноз саркомы Капоши с поражением кожи конечностей был установлен несколькими годами ранее) и на основании характерной клинической картины.

Характеристика больных саркомой Капоши приведена в таблице. Как видно из ее данных, у всех больных имелась нодулярная стадия опухоли век,

Характеристика «глазных» и «внеглазных» проявлений саркомы Капоши

№ пациента	Пол / возраст	«Глазная» локализация	Клинический тип / форма	Клиническая стадия «глазных» проявлений	Локализация «внеглазных» проявлений	Клиническая стадия «внеглазных» проявлений
1	м / 19	Кожа верхнего века	СПИД-ассоциированный тип	Нодулярная односторонняя	Кожа лица, кожа рук	Пятнистая
2	м / 24	Кожа верхнего века	СПИД-ассоциированный тип	Нодулярная односторонняя	Слизистая губы и твердого нёба, кожа рук	Нодулярная и папулезная
3	м / 33	Кожа верхнего века	СПИД-ассоциированный тип	Нодулярная односторонняя	Кожа лица и волосистой части головы	Пятнистая
4	м / 67	Конъюнктива верхнего века	Иммуносупрессивный тип / посттрансплантационная форма	Нодулярная односторонняя	Тыльная сторона кисти рук	Папулезная
5	ж / 56	Кожа обоих век	Классический тип / хроническая форма	Нодулярная односторонняя	Тыльная сторона кисти рук	Пятнистая
6	м / 83	Кожа верхнего века	Классический тип / хроническая форма	Нодулярная односторонняя	Голени	Папулезная



в то время как поражение кожи конечностей было в виде пятен или папул (пятнистая или папулезная стадия заболевания).

Все пациенты получали лечение на фоне иммунокоррекции у онкодерматолога и/или инфекциониста, трансплантолога в зависимости от клинического типа заболевания. Локальная радиоэксцизия опухолей век проведена четырем пациентам с паллиативной целью в связи с обширными размерами опухоли, закрывающей глаз. Больные со СПИД-ассоциированным типом заболевания были направлены для антиретровирусной и цитотоксической терапии.

## Обсуждение

Саркома Капоши была описана почти 150 лет назад венгерским дерматологом М. Kaposi [10]. Однако особое внимание этой опухоли было уделено в ранние 1980-е гг., когда была обнаружена связь саркомы Капоши с синдромом приобретенного иммунодефицита.

В отличие от других злокачественных опухолей неоваскуляризация саркомы Капоши возникает на самых ранних этапах. Сегодня нет единого взгляда на происхождение веретенообразных клеток, из которых состоит опухоль. Вероятнее всего, они образуются из эндотелия лимфатических сосудов [11]. Важную роль в развитии саркомы Капоши играет вирус герпеса человека 8-го типа, известный как герпес-вирус, вызывающий саркому Капоши, и определяемый у больных всех клинических форм [12]. Вирус герпеса 8-го типа считается важным, но

не единственным этиотропным фактором саркомы Капоши. Непременное условие развития опухоли – иммунодефицит. Агрессивность опухоли зависит от клинического типа и иммунитета человека [13].

Морфологическая картина всех клинических типов саркомы Капоши совершенно идентична. S. Gramolelli и T.F. Schulz считают, что по мере прогрессирования опухоли от ранних стадий (пятнистой или папулезной) к развитой стадии (нодулярной) меняется и морфологическая картина [12]. В морфологическом субстрате пятнистой стадии опухоли преобладают клетки воспалительного ряда, а веретенообразные клетки присутствуют в небольшом количестве [14]. В папулезной стадии саркомы Капоши преобладают веретенообразные клетки, которые в развитой стадии формируют нодулярные структуры [15]. Необходимо отметить, что поражение век возникало у наших пациентов позже, чем изменения кожи конечностей, тем не менее опухоль век была в развитой, нодулярной стадии, в то время как опухоли кожи конечностей были в начальных стадиях – в виде пятен или папул. Возможно, это связано с хорошо развитой лимфатической системой век.

## Заключение

Саркома Капоши редко поражает кожу или конъюнктиву век, однако у больных с иммунодефицитом она должна быть включена в дифференциально-диагностический ряд опухолей век. ☺

### Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

## Литература

1. Кубанова АА, ред. Дерматовенерология: клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006. 320 с.
2. Antman K, Chang Y. Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med.* 2000;342(14):1027–38. doi: 10.1056/NEJM200004063421407.
3. Беляков НА, Рахманова АГ, ред. Вирус иммунодефицита человека – медицина. Руководство для врачей. 2-е изд. СПб.: Балтийский образовательный центр; 2011. 655 с.
4. Рассохин ВВ, Крестьянинова АР. Саркома Капоши. Диагностика и лечение. Практическая онкология. 2012;13(2):114–24.
5. Curtis TH, Durairaj VD. Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 2005;21(4):314–5. doi: 10.1097/01.iop.0000167783.06103.da.
6. Bavishi A, Ashraf A, Lee L. AIDS-associated Kaposi's sarcoma of the conjunctiva in a woman. *Int J STD AIDS.* 2012;23(3):221–2. doi: 10.1258/ijsa.2009.009144.
7. Schmid K, Wild T, Bolz M, Horvat R, Jurecka W, Zehetmayer M. Kaposi's sarcoma of the conjunctiva leads to a diagnosis of acquired immunodeficiency syndrome. *Acta Ophthalmol Scand.* 2003;81(4):411–3. doi: 10.1034/j.1600-0420.2003.00105.x.
8. Молочков АВ, Казанцева ИА, Гурцевич ВЭ. Саркома Капоши. М.: Бином; 2002. 144 с.
9. Dammacco R, Lapenna L, Giancipoli G, Piscitelli D, Sborgia C. Solitary eyelid Kaposi sarcoma in an HIV-negative patient. *Cornea.* 2006;25(4):490–2. doi: 10.1097/01.ico.0000214212.37447.58.
10. Kaposi M. Idiopathic multiples Pigmentsarkom der Haut. *Arch Dermatol Syph.* 1872;3:265–73.
11. Hong YK, Foreman K, Shin JW, Hirakawa S, Curry CL, Sage DR, Libermann T, Dezube BJ, Fingerth JD, Detmar M. Lymphatic reprogramming of blood vascular endothelium by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Nat Genet.* 2004;36(7):683–5. doi: 10.1038/ng1383.
12. Gramolelli S, Schulz TF. The role of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in the pathogenesis of Kaposi sarcoma. *J Pathol.* 2015;235(2):368–80. doi: 10.1002/path.4441.
13. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(2):289–94. doi: 10.5858/arpa.2012-0101-RS.
14. Orenstein JM. Ultrastructure of Kaposi sarcoma. *Ultrastruct Pathol.* 2008;32(5):211–20. doi: 10.1080/01913120802343871.
15. Ciuffo DM, Cannon JS, Poole LJ, Wu FY, Murray P, Ambinder RF, Hayward GS. Spindle cell conversion by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: formation of colonies and plaques with mixed lytic and latent gene expression in infected primary dermal microvascular endothelial cell cultures. *J Virol.* 2001;75(12):5614–26. doi: 10.1128/JVI.75.12.5614-5626.2001.



## References

1. Kubanova AA, editor. *Dermatovenereology: Clinical guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. 320 p. Russian.
2. Antman K, Chang Y. Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med*. 2000;342(14):1027–38. doi: 10.1056/NEJM200004063421407.
3. Belyakov NA, Rakhmanova AG, editors. *Human Immunodeficiency Virus: medicine*. 2<sup>nd</sup> ed. Saint Petersburg: Baltiyskiy obrazovatel'nyy tseñtr; 2011. 655 p. Russian.
4. Rassokhin VV, Krest'yaninova AR. Kaposi Sarcoma. *Diagnostics and treatment. Practical Oncology*. 2012;13(2):114–24. Russian.
5. Curtis TH, Durairaj VD. Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 2005;21(4):314–5. doi: 10.1097/01.iop.0000167783.06103.da.
6. Bavishi A, Ashraf A, Lee L. AIDS-associated Kaposi's sarcoma of the conjunctiva in a woman. *Int J STD AIDS*. 2012;23(3):221–2. doi: 10.1258/ijsa.2009.009144.
7. Schmid K, Wild T, Bolz M, Horvat R, Jurecka W, Zehetmayer M. Kaposi's sarcoma of the conjunctiva leads to a diagnosis of acquired immunodeficiency syndrome. *Acta Ophthalmol Scand*. 2003;81(4):411–3. doi: 10.1034/j.1600-0420.2003.00105.x.
8. Molochkov AV, Kazantseva IA, Gurtsevich VE. *Kaposi's sarcoma*. Moscow: Binom; 2002. 144 p. Russian.
9. Dammacco R, Lapenna L, Giampoli G, Piscitelli D, Sborgia C. Solitary eyelid Kaposi sarcoma in an HIV-negative patient. *Cornea*. 2006;25(4):490–2. doi: 10.1097/01.ico.0000214212.37447.58.
10. Kaposi M. Idiopathisches multiples Pigmentsarkom der Haut. *Arch Dermatol Syph*. 1872;3:265–73.
11. Hong YK, Foreman K, Shin JW, Hirakawa S, Curry CL, Sage DR, Libermann T, Dezube BJ, Fingerth JD, Detmar M. Lymphatic reprogramming of blood vascular endothelium by Kaposi sarcoma-associated herpesvirus. *Nat Genet*. 2004;36(7):683–5. doi: 10.1038/ng1383.
12. Gramolelli S, Schulz TF. The role of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in the pathogenesis of Kaposi sarcoma. *J Pathol*. 2015;235(2):368–80. doi: 10.1002/path.4441.
13. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(2):289–94. doi: 10.5858/arpa.2012-0101-RS.
14. Orenstein JM. Ultrastructure of Kaposi sarcoma. *Ultrastruct Pathol*. 2008;32(5):211–20. doi: 10.1080/01913120802343871.
15. Ciufo DM, Cannon JS, Poole LJ, Wu FY, Murray P, Ambinder RF, Hayward GS. Spindle cell conversion by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus: formation of colonies and plaques with mixed lytic and latent gene expression in infected primary dermal microvascular endothelial cell cultures. *J Virol*. 2001;75(12):5614–26. doi: 10.1128/JVI.75.12.5614-5626.2001.

# Kaposi's sarcoma with the eyelid involvement (6 clinical cases)

E.E. Grishina<sup>1</sup>

Kaposi's sarcoma is a multifocal tumor from vascular endothelium with a low grade of malignancy. It develops due to underlying immune deficiency and is associated with human herpesvirus 8. Kaposi's sarcoma of the eyelids is rare, and its diagnosis can be difficult both for ophthalmologists and oncodermatologists. The paper describes six clinical cases of Kaposi's sarcoma with involvement of the eyelids. Three patients had an HIV-associated type of the tumor. One patient had an immunosuppressive type of the tumor during immunosuppressive treatment after kidney transplantation. Two elderly patients had Kaposi's sarcoma of the classic type. Tumors of the eyelids developed after several years of skin involvement. All patients had advanced (nodular) stage of Kaposi's sarcoma of the eyelids, whereas the skin tumors looked as spots (maculas) or papules (macular or papular stage of the disease). The eyelid tumor

presented as an extensive dark red tumor nodule distinctly separate from the adjacent tissues. In all cases, the eyelid tumor was big and hindered the sight. All the patients were treated by an oncodermatologist and/or a specialist in infectious diseases, depending on the clinical type of the disease. Kaposi's sarcoma rarely involves the eyelid skin or conjunctiva; however, in immunodeficient patients it must be included into the list for the differential diagnosis of eyelid tumors.

**Key words:** eyelid neoplasms, Kaposi's sarcoma, classical, AIDS, immunosuppressive agents, kidney transplantation, adults, diagnosis

**For citation:** Grishina EE. Kaposi's sarcoma with the eyelid involvement (6 clinical cases). *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):390–4. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-390-394.

Received 14 June 2018; accepted 24 June 2018

**Elena E. Grishina** – MD, PhD, Professor, Leading Research Fellow, Ophthalmology Department<sup>1</sup>  
✉ 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (905) 703 18 63.  
E-mail: eyelena@mail.ru

### Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.

<sup>1</sup> Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation