



Учредитель журнала:
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Журнал включен в перечень научных специализированных изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук:

- 3.1. Клиническая медицина;**
- 3.2. Профилактическая медицина;**
- 3.3. Медико-биологические науки;**
- 3.4. Фармацевтические науки**

Журнал включен в библиографическую базу данных научных публикаций РИНЦ.

Электронная версия журнала размещена на сайтах:

Журнала <https://umj.usma.ru>

Научной Электронной Библиотеки <http://elibrary.ru>

Адрес: ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, ул. Репина, 3, г. Екатеринбург, РФ, 620028
Email: uralmedjournal@gmail.com

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций ПИ № ФС 77-79345 от 02.11.2020 г.

Территория распространения: Российская Федерация

Язык: русский

Издается шесть раз в год

Цена – свободная

Индекс для подписки по каталогу E18014.

Оригинал-макет изготовлен в типографии ИП Копыльцов П.И.

394052, Воронежская область, г. Воронеж, ул. Маршала Неделина, д. 27, кв. 56.

Тел.: 89507656959. E-mail: Kopyltsow_Pavel@mail.ru

УРАЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 22

№ 2

2023

URAL MEDICAL JOURNAL

Главный редактор

Ковтун О.П., Екатеринбург, Россия

Editor-in-chief

Kovtun O.P., Ekaterinburg, Russia

Заместитель главного редактора

Вахлова И.В., Екатеринбург, Россия

Deputy Editor-in-chief

Vakhlova I.V., Ekaterinburg, Russia

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Базарный В.В., Екатеринбург, Россия
Борзунов Д.Ю., Екатеринбург, Россия
Волкова Л.И., Екатеринбург, Россия
Казачков Е.Л., Челябинск, Россия
Изможерова Н.В., Екатеринбург, Россия
Лещенко И.В., Екатеринбург, Россия
Максимов Д.М., Екатеринбург, Россия
Обоскалова Т.А., Екатеринбург, Россия
Руднов В.А., Екатеринбург, Россия
Смоленская О.Г., Екатеринбург, Россия
Уфимцева М.А., Екатеринбург, Россия

EDITORIAL BOARD

Bazarnyi V.V., Ekaterinburg, Russia
Borzunov D.Yu., Ekaterinburg, Russia
Volkova L.I., Ekaterinburg, Russia
Kazachkov E.L., Chelyabinsk, Russia
Izmozherova N.V., Ekaterinburg, Russia
Leshchenko I.V., Ekaterinburg, Russia
Maksimov D.M., Ekaterinburg, Russia
Oboskalova T.A., Ekaterinburg, Russia
Rudnov V.A., Ekaterinburg, Russia
Smolenskaya O.G., Ekaterinburg, Russia
Ufimtseva M.A., Ekaterinburg, Russia

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Баранов А.А., Москва, Россия
Важенин А.В., Челябинск, Россия
Владими́рофф Ю.В., Кембридж,
Великобритания
Голухова Е.З., Москва, Россия
Драпкина О.М., Москва, Россия
Кутепов С.М., Екатеринбург, Россия
Москалёв А.А., Сыктывкар, Россия
Намазова-Баранова Л.С., Москва, Россия
Олесен Дж., Копенгаген, Копенгаген,
Дания
Стародубов В.И., Москва, Россия
Усачёв Д.Ю., Москва, Россия

EDITORIAL COUNCIL

Baranov A.A., Moscow, Russia
Vazhenin A.V., Chelyabinsk, Russia
Wladimiroff Ju.W., Cambridge,
United Kingdom
Golukhova E.Z., Moscow, Russia
Drapkina O.M., Moscow, Russia
Kutepov S.M., Ekaterinburg, Russia
Moskalev A.A., Syktyvkar, Russia
Namazova-Baranova L.S., Moscow, Russia
Olesen Jes, Copenhagen,
Denmark
Starodubov V.I., Moscow, Russia
Usachev D.Yu., Moscow, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ СТАТЬИ

РЕЦЕПТИВНЫЙ СТАТУС ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ДИФфуЗНОЙ И УЗЛОВОЙ ФОРМАМИ АДЕНОМИОЗА	6
<i>Михалева Л.М., Соломатина А.А., Исмаилова П.Д., Тумасян Е.А., Михалев С.А., Бирюков А.Е., Грачева Н.А., Гашимова А.И., Регул С.В., Халифаева З.З.</i>	
ХРОНИЧЕСКИЙ ЭНДОМЕТРИТ И МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ЭНДОМЕТРИЯ: ЕСТЬ ЛИ СВЯЗЬ?	16
<i>Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Ворopaева Е.Е.</i>	
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ И РЕЖИМОВ ЛАЗЕРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИМАТОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ	24
<i>Казачков Е.Л., Сафронов О.В., Казачкова Э.А., Игнатъева Е.Н., Сафронова И.В., Тарасова Л.Б.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОСТТОКСИЧЕСКОГО ФИБРОЗА И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ И ПРИМЕНЕНИИ ОКИСЛЕННОГО ДЕКСТРАНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	34
<i>Карпов М.А., Надеев А.П., Шкурupий В.А., Клочин В.Д., Костина Л.Ю.</i>	
RDCSD4 И CDX-2 КАК ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АТРОФИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ	40
<i>Рубцов В.А., Шиманская А.Г., Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Поморгайло Е.Г., Кононов А.В.</i>	
ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА CDX2 В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ МЕТОДОМ РАСЧЕТА ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ИНДЕКСА И ЕГО ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ	49
<i>Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Шиманская А.Г., Рубцов В.А., Остроглядова И.А., Кононов А.В.</i>	
ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАКРОФАГАЛЬНОЙ ВАСКУЛОПОДОБНОЙ МИМИКРИИ В ОЦЕНКЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ	56
<i>Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Панова И.Е., Савец В.В., Ярина Л.В., Шамаева Т.Н., Власова В.М.</i>	
ИНДЕКС ОБНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АТИПИЧЕСКОЙ МЕЛКОАЦИНАРНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРОСТАТЫ	65
<i>Дуб А.А.</i>	
ПРЕДИКТИВНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ микроРНК И КОЛИЧЕСТВА РАЙОНОВ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ПРИ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ОПУХОЛИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА	74
<i>Ильина Т.Е., Казачков Е.Л., Сергейко С.В.</i>	
КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДЕНОМ ПЕРЕДНЕЙ ДОЛИ ГИПОФИЗА	84
<i>Петров С.В., Абузова Я.С., Гизатуллина Н.Ф., Соколова Е.О.</i>	
ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ РН-НЕГАТИВНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	93
<i>Гоголева Д.В., Сычугов Г.В.</i>	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ ПРИ НЕОПРЕДЕЛЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ ПСОРИАЗА И АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ	102
<i>Юрина Н.В., Агеева Т.А., Макеев О.А., Еремеев И.Р., Сергеева И.Г.</i>	
ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛАЦЕНТ У БЕРЕМЕННЫХ С КРИТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЛЕГКИХ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19	109
<i>Ворopaева Е.Е., Хайдукова Ю.В., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Шамаева Т.Н., Алиева А.А., Ищенко Л.С., Холопова А.Ю., Сычугов Г.В.</i>	
АНАЛИЗ ПРИЧИН АНТЕНАТАЛЬНОЙ СМЕРТИ ДОНОШЕННОГО ПЛОДА В ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ	122
<i>Чижовская А.В., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Семенов Ю.А.</i>	
КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ	
Т-ЛИМФОБЛАСТНАЯ ЛИМФОМА ЛИМФОУЗЛОВ СРЕДОСТЕНИЯ С ВТОРИЧНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПОДРОСТКА	135
<i>Пастернак И.А., Казачков Е.Л., Пастернак А.Е.</i>	
ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ	
ХРОНИЧЕСКИЙ ЭНДОМЕТРИТ – ЗАТЯНУВШАЯСЯ ДИСКУССИЯ	142
<i>Толибова Г.Х., Траль Т.Г.</i>	
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ СЕПСИСА В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ	153
<i>Фрейнд Г.Г., Булдакова А.А.</i>	

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

ENDOMETRIAL RECEPTIVE STATUS IN PATIENTS OF REPRODUCTIVE AGE WITH DIFFUSE AND FOCAL ADENOMYOSIS	6
<i>Mikhaleva L.M., Solomatina A.A., Ismailova P.D., Tumasyan E.A., Mikhalev S.A., Biryukov A.E., Gracheva N.A., Gashimova A.I., Regul S.V., Khalifaeva Z.Z.</i>	
CHRONIC ENDOMETRITIS AND MICROSATELLITE INSTABILITY OF THE ENDOMETRIUM: IS THERE A CONNECTION?.....	16
<i>Kazachkov E.L., Zatvornitskaya A.V., Kazachkova E.A., Voropaeva E.E.</i>	
MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF LASER EXPOSURE PARAMETERS AND MODES FOR SURGICAL TREATMENT OF INTRAUTERINE PATHOLOGY	24
<i>Kazachkov E.L., Safronov O.V., Kazachkova E.A., Ignatieva E.N., Safronova I.V., Tarasova L.B.</i>	
STUDY OF THE ROLE OF METALLOPROTEINASES AND THEIR INHIBITORS IN THE FORMATION OF POSTTOXIC FIBROSIS AND CIRRHOSIS AND THE USE OF OXIDIZED DEXTRAN IN THE EXPERIMENT	34
<i>Karpov M.A., Nadeev A.P., Shkurupiy V.A., Klochin V.D., Kostina L.Yu.</i>	
PDCD4 AND CDX-2 AS IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF GASTRIC MUCOSA ATROPHY IN CHRONIC GASTRITIS	40
<i>Rubtsov V.A., Shimanskaya A.G., Parygina M.N., Mozgovoi S.I., Pomorgailo E.G., Kononov A.V.</i>	
EVALUATION OF THE CDX2 PROTEIN DISTRIBUTION IN THE GASTRIC MUCOSA IN CHRONIC GASTRITIS BY A SEMI-QUANTITATIVE INDEX AND ITS REPRODUCIBILITY	49
<i>Parygina M.N., Mozgovoi S.I., Shimanskaya A.G., Rubtsov V.A., Ostroglyadova I.A., Kononov A.V.</i>	
PROGNOSTIC VALUE OF MACROPHAGE VASCULIFORM MIMICRY IN THE EVALUATION OF UVEAL MELANOMA PROGRESSION	56
<i>Shamanova A.Y., Kazachkov E.L., Panova I.E., Saevets V.V., Yarina L.V., Shamaeva T.N., Vlasova V.M.</i>	
CELL RENEWAL INDEX IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ATYPICAL SMALL ACINAR PROLIFERATION AND ADENOCARCINOMA OF THE PROSTATE	65
<i>Dub A.A.</i>	
PREDICTIVE ASSESSMENT OF MICRO RNA EXPRESSION LEVEL AND NUMBER OF NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS WITH FOLLICULAR THYROID TUMOR OF UNDETERMINED MALIGNANT POTENTIAL	74
<i>Il'ina T.E., Kazachkov E.L., Sergijko S.V.</i>	
CLINICAL-MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF ADENOMAS OF THE ANTERIOR PITUITARY LOBE.....	84
<i>Petrov S.V., Abuzova Y.S., Gizatullina N.F., Sokolova E.O.</i>	
IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF BONE MARROW EXTRACELLULAR MATRIX IN PH-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE DISEASES	93
<i>Gogoleva D.V., Sychugov G.V.</i>	
MORPHOLOGICAL FEATURES OF SKIN CHANGES IN THE UNDETERMINED CLINICAL PICTURE OF PSORIASIS AND ATOPIC DERMATITIS IN CHILDREN	102
<i>Yurina N.V., Ageeva T.A., Makeenko O.A., Ereemeev I.R., Sergeeva I.G.</i>	
PERINATAL OUTCOMES AND MORPHOLOGICAL EXAMINATION OF PLACENTAS IN PREGNANT WOMEN WITH CRITICAL LUNG LESIONS IN NEW COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION	109
<i>Voropaeva E.E., Khaidukova Yu.V., Kazachkova E.A., Kazachkov E.L., Shamaeva T.N., Aliyev A.A., Ishchenko L.S., Holopova A.YU., Sychugov G.V.</i>	
ANALYSIS OF THE CAUSES OF ANTENATAL DEATH OF PREMATURE FETUSES IN THE CHELYABINSK REGION.....	122
<i>Chizhovskaya A.V., Kazachkova E.A., Kazachkov E.L., Semenov Yu.A.</i>	
CLINICAL CASE	
T-LYMPHOBLASTIC LYMPHOMA OF MEDIASTINAL LYMPH NODES WITH SECONDARY THYROID INVOLVEMENT IN AN ADOLESCENT	135
<i>Pasternak I.A., Kazachkov E.L., Pasternak A.E.</i>	
LITERATURE REVIEWS	
CHRONIC ENDOMETRITIS: A PROTRACTED DISCUSSION.....	142
<i>Tolibova G.Kh., Tral T.G.</i>	
PATHOGENETIC VARIANTS OF SEPSIS IN ONCOLOGY PRACTICE	153
<i>Freynd G.G., Buldakova A.A.</i>	

Уважаемые читатели, коллеги, друзья!

Представляем вам очередной номер «Уральского медицинского журнала», выход которого приурочен к проведению традиционной ежегодной VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики». Конференция состоялась 7–8 апреля 2023 года под эгидой Российского общества патологоанатомов, Министерства здравоохранения Челябинской области, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России и ГБУЗ «Челябинское областное патологоанатомическое бюро».

Сегодня морфологические методы диагностики в патологии человека зачастую являются определяющими, они постоянно усложняются, требуют высокого профессионализма от врача-патологоанатома, который нередко становится ключевой фигурой диагностического процесса. При этом именно морфологическая составляющая диагноза представляет собой стратегическую основу терапевтической либо хирургической тактики врача-клинициста, сущность персонифицированного подхода к лечению пациента.

В номер журнала вошли публикации ведущих патологоанатомов Москвы, Санкт-Петербурга, Челябинска, Новосибирска, Казани, Омска и Перми. Большинство работ посвящено патологии женской репродуктивной системы, предстательной и щитовидной желёз, печени, желудка, кожи, лимфопролиферативным заболеваниям, опухолям гипофиза и хориоидеи, поражениям плаценты при новой коронавирусной инфекции COVID-19, антенатальной смерти плода.

Надеюсь, что опубликованные результаты исследований, посвященные ведущим проблемам патологической анатомии, станут полезными не только патологам, но и клиницистам, научным сотрудникам и преподавателям, которые работают в области современной патологии человека.

Е.Л. Казачков, доктор медицинских наук, профессор,
вице-президент Российского общества патологоанатомов,
заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины
имени профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО Южно-Уральского государственного
медицинского университета Минздрава России,

РЕЦЕПТИВНЫЙ СТАТУС ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ДИФфуЗНОЙ И УЗЛОВОЙ ФОРМАМИ АДЕНОМИОЗА

Л.М. Михалева¹, А.А. Соломатина², П.Д. Исмаилова³, Е.А. Тумасян⁴, С.А. Михалев⁵,
А.Е. Бирюков⁶, Н.А. Грачева⁷, А.И. Гашимова⁸, С.В. Регул⁹, З.З. Халифаева¹⁰

^{2, 3, 4, 5, 8, 9, 10} Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

^{1, 6} Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

^{1, 2, 6, 7} Городская клиническая больница №31, Москва, Россия

¹ mikhalevalm@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

² 9200690@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3802-7343>

³ velieva.95@mail.ru

⁴ elizavetatumasyan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5493-1685>

⁵ dr.mikhalev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4822-0956>

⁶ bervost@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9700-3352>

⁷ gracheva_na67@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7286-6629>

⁸ agashimova94@mail.ru

⁹ reggyn@bk.ru

¹⁰ khalifaeva29@mail.ru

Аннотация

Введение. Эндометриоз занимает второе место в структуре бесплодия. Одним из факторов инфертильности является развитие эндометриальной дисфункции, которая влияет на степень снижения рецептивных способностей эндометрия и последующую имплантацию. **Цель** – выявить морфо-функциональные нарушения рецептивности и нидационной состоятельности (имплантационной способности) эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с диффузной и узловой формами аденомиоза. **Материалы и методы.** В исследование включены 104 пациентки, разделены на 2 группы: I группа (n=30) – диффузная форма аденомиоза, II группа (n=30) – узловатая форма аденомиоза. Пациенткам выполняли аспирационную биопсию эндометрия в среднюю стадию фазы секреции. Оценивали уровень экспрессии ER и PR в железистом и стромальном компартментах эндометрия, определяли процентное количество и степень зрелости пиноподий. **Результаты.** При анализе числа ER и PR в стромальном и железистом компонентах эндометрия у исследуемых с диффузной формой аденомиоза выявлено повышение секреции ER в ядрах железистых клеток при сопоставлении с пациентками группы сравнения; среди наблюдаемых с узловой формой аденомиоза верифицированы значимые различия в экспрессии ER и PR в железистых клетках. При сравнении показателей среди пациенток двух групп — степень выраженности иммуногистохимической реакции с антителами к ER и PR при узловой форме аденомиоза была значительно выше, чем при диффузной форме. Как в первой, так и во второй группах было констатировано снижение способности поверхностного эпителия к формированию пиноподий. **Обсуждение.** Аденомиоз приводит к нарушениям морфо-функционального состояния и рецептивных способностей эндометрия, при узловой форме заболевания степень выявленных нарушений была выше. **Заключение.** Узловатая форма аденомиоза встречается преимущественно у наблюдаемых младшего репродуктивного возраста и сопряжена с более высокой частотой верификации эндометриальной дисфункции, что особенно важно для подбора адекватной современной терапии с целью дальнейшего сохранения и повышения репродуктивной функции.

Ключевые слова: аденомиоз, рецептивность, эндометрий, эстрогеновые рецепторы, прогестероновые рецепторы, пиноподии.

Для цитирования: Михалева Л.М., Соломатина А.А., Исмаилова П.Д. с соавт. Рецептивный статус эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с диффузной и узловой формами аденомиоза. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):6-15. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-6-15>.

© Михалева Л.М., Соломатина А.А., Исмаилова П.Д., Тумасян Е.А., Михалев С.А., Бирюков А.Е., Грачева Н.А., Гашимова А.И., Регул С.В., Халифаева З.З., 2023

© Mikhaleva L.M., Solomatina A.A., Ismailova P.D., Tumasyan E.A., Mikhalev S.A., Biryukov A.E., Gracheva N.A., Gashimova A.I., Regul S.V., Khalifaeva Z.Z., 2023

ENDOMETRIAL RECEPTIVE STATUS IN PATIENTS OF REPRODUCTIVE AGE WITH DIFFUSE AND FOCAL ADENOMYOSIS

L.M. Mikhaleva¹, A.A. Solomatina², P.D. Ismailova³, E.A. Tumasyan⁴, S.A. Mikhalev⁵,
A.E. Biryukov⁶, N.A. Gracheva⁷, A.I. Gashimova⁸, S.V. Regul⁹, Z.Z. Khalifaeva¹⁰

^{2, 3, 4, 5, 8, 9, 10} N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

^{1, 6} Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

^{1, 2, 6, 7} City Clinical Hospital No. 31, Moscow, Russia

¹ mikhalevalm@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2052-914X>

² 9200690@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3802-7343>

³ velieva.95@mail.ru

⁴ elizavetatumasyan@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5493-1685>

⁵ dr.mikhalev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4822-0956>

⁶ bervost@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9700-3352>

⁷ gracheva_na67@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7286-6629>

⁸ agashimova94@mail.ru

⁹ reggyn@bk.ru

¹⁰ khalifaeva29@mail.ru

Abstract

Introduction Endometriosis ranks second place in the structure of infertility. The development of endometrial dysfunction is one of the infertility factors, which affects the degree of decrease in the receptive abilities of endometrium and subsequent implantation. **Purpose of the study** was to reveal morpho-functional state of receptivity and nidation ability of endometrium in patients of reproductive age with diffuse and nodal forms of adenomyosis. **Materials and methods** The study included 104 patients, which were divided into 2 groups. The first group consisted of 30 patients with a diffuse form of adenomyosis, second group included 30 patients with a nodal form. The patients underwent aspiration biopsy of endometrium in the middle secretory phase. The level of ER and PR expression in the glandular and stromal compartments of endometrium was assessed, the percentage and degree of maturity of pinopodes were determined. **Results** The analysis of ER and PR number in the stromal and glandular components of endometrium in patients with diffuse adenomyosis revealed an increase in the secretion of ER in the glandular cells in contrast to patients of the comparison group. Significant differences in the expression of ER and PR in glandular cells were verified among observed with the nodal form of adenomyosis. The immunohistochemical reaction with antibodies to ER and PR in the nodal form of adenomyosis was significantly higher than in diffuse form. Both in the first and second groups, a decrease in the formation ability of pinopodes on the superficial epithelium was noted. **Discussion** Adenomyosis leads to damage of the morpho-functional state and receptive abilities of the endometrium. In the nodal form the degree of detected disorders was significantly higher. **Conclusion** The nodal form of adenomyosis is more common in patients of younger reproductive age and is associated with a higher prevalence of endometrial dysfunction. This is especially important for the selection of adequate modern therapy in order to maintain and improve reproductive function.

Keywords: adenomyosis, receptivity, endometrium, estrogen receptors, progesterone receptors, pinopodes.

For citation:

Mikhaleva LM, Solomatina AA, Ismailova PD et al. Endometrial receptive status in patients of reproductive age with diffuse and focal adenomyosis. Ural medical journal 2023;22(2):6-15. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-6-15>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время эндометриоз остается одним из наиболее актуальных вопросов современной гинекологии. Значимость данного заболевания обусловлена рядом факторов: высокой распространённостью в репродуктивном возрасте, развитием тяжелых клинических проявлений (аномальные маточные кровотечения, дисменорея, тазовая боль, диспареуния), высокой частотой бесплодия,

неблагоприятным влиянием на репродуктивные исходы, значительным снижением качества жизни пациенток [1–4]. По мнению большинства ученых [5–7] в структуре причин бесплодия эндометриоз занимает второе место после хронического эндометрита. По сведениям современной литературы, эндометриоз выявляется примерно у 10% женщин репродуктивного возраста, на долю аденомиоза приходится до 90% наблюдений [8–10]. Большин-

ство исследователей сходятся во мнении, что взаимосвязь заболевания с бесплодием изучена недостаточно, коэффициент фертильности у здоровых женщин составляет 0,15-0,20, у обследуемых с аденомиозом 0,02-0,10 [11]. В зависимости от морфологической картины выделяют диффузную, узловую и кистозную формы аденомиоза. По данным К.М. Джамалутдиновой и соавт. [12] узловатая форма встречается чаще и наблюдается в более молодом возрасте ($35,9 \pm 0,5$ лет vs $44,9 \pm 0,6$ лет). Частота первичного и вторичного бесплодия составляет 33,3% и 45,6% соответственно при узловой форме аденомиоза, 6,7% и 10,0% – при диффузной форме. Кроме того, узловатая форма аденомиоза может рассматриваться в качестве самостоятельного независимого фактора риска развития бесплодия [13]. Одной из теорий возникновения бесплодия при эндометриозе является нарушение восприимчивости эндометрия [14–16].

В современной гинекологии и репродуктологии морфо-функциональная состоятельность слизистой матки является синонимом понятия «рецептивность эндометрия», которая подразумевает сложный процесс, обеспечивающий возможность прикрепления бластоцисты к поверхности эндометрия с последующей инвазией в строму [17–20]. Приобретение функциональным слоем матки рецептивных свойств происходит в ограниченный период времени в рамках так называемого «окна имплантации», которое открывается на 6–10 день после овуляции естественного менструального цикла и остается открытым около 48 часов [21, 22]. Для оценки фертильности одним из методов является определение уровня рецептивности к половым гормонам в эндометрии с помощью иммуногистохимической (ИГХ) реакции с анализом количества эстрогеновых (ER) и прогестероновых рецепторов (PR) в железистом и стромальном компартментах слизистой оболочки матки. Чувствительность стероидных гормонов к одноименным рецепторам различна в зависимости от фазы менструального цикла. Экспрессия к ER увеличивается на пике фолликулярной фазы и резко снижается в секреторную фазу. Чувствительность прогестероновых рецепторов имеет противоположный вектор, что характеризуется увеличением экспрессии в пролиферативной и ранней секреторной фазе, а также снижением к поздней стадии фазы секреции. Одним из факторов функциональной неполноценности эндометрия при эндометриозе считают дисбаланс гормональных рецепторов, проявляющийся в нарушении соотношения ER и PR в средней стадии фазы секреции (норма от 2 до 4) [23]. В ряде исследований отмечено, что эндометриоз характеризуется абсолютной и относительной гиперэстрогемией и развитием «прогестерон-резистентности» ввиду снижения общего числа PR. Однако стероидные гормоны оказывают влияние не только на циклические изменения эндометрия,

но и на секрецию клеток на поверхности эпителия – пиноподий, количество и степень дифференцировки которых являются прогностическими критериями нидации. При 28-дневном менструальном цикле пиноподии начинают развиваться на 17-й день цикла, достигают пика своей дифференцировки на 20–21-й дни, после чего подвергаются постепенной инволюции [24]. В зависимости от процентного числа клеток поверхностного эпителия эндометрия, имеющих куполообразные выпячивания, выделяют три класса: обильные (более 50%), умеренные (20–50%), немногочисленные (менее 20%). Установлено, что у пациенток с недостаточным количеством пиноподий вероятность наступления беременности снижена или беременность невозможна [25, 26]. Вышеперечисленные морфо-функциональные нарушения слизистой оболочки матки приводят к формированию эндометриальной дисфункции, в основе которой лежат: нарушение секреторной трансформации эндометрия, дисбаланс рецепторов к половым гормонам (эстрогена, прогестерона) и изменение экспрессии биологических молекул, детерминирующих нарушение имплантации, плацентации и гибель эмбриона [27–29].

Цель исследования — выявить морфо-функциональные нарушения рецептивности и нидационной состоятельности (имплантационной способности) эндометрия у пациенток репродуктивного возраста с диффузной и узловой формами аденомиоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное клиническое исследование включены 104 пациентки репродуктивного возраста (от 19 до 42 лет), имеющие в анамнезе аденомиоз, подтвержденный эхографически или по данным МРТ-исследования, не принимавшие гормональные препараты и не использовавшие ВМК в течение полугода до начала обследования, с индексом массы тела в пределах нормативных значений ($18,5$ – $24,9$ кг/м²). Лечение проводилось в гинекологическом отделении ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 Департамента здравоохранения Москвы». Всем обследуемым предоставлена информация о методах исследования, пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании, протокол одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека им. академика А.П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского». Период наблюдения составил 2021–2022 гг. Все исследуемые были ранжированы на две группы в зависимости от формы аденомиоза: первую группу составили 30 пациенток с диффузной формой аденомиоза, вторую группу – 30 с узловой формой. Группу сравнения представляли здоровые женщины репродуктивного возраста с нормальным менструальным циклом, не

принимающие эстроген-гестагенные препараты в течение двух лет и обратившиеся в клинику для подбора контрацепции. Пациенткам выполняли pipelle-биопсию функционального слоя матки в середине секреторной фазы менструального цикла (на 18–21 день, «окно имплантации»). День овуляции определяли по уровню прогестерона в плазме крови, визуализации желтого тела в яичнике и свободной жидкости в малом тазу по данным ультразвукового исследования органов малого таза. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом. Информированное согласие получено у всех участников исследования.

Для изучения образцов тканей с использованием световой микроскопии препараты заготавливались в автоматическом гистопроцессоре Leica ASP 30 (Leica Microsystems, Германия) с последующей заливкой в парафин на станции Leica EG 1150. Окрашивание гистологических срезов толщиной 4 мкм гематоксилином и эозином осуществлялось в автоматической станции Leica ST 5010. Для микроскопии использовался триокулярный микроскоп модели Leica DMLB (окуляры с увеличением в 10 раз) с функцией записи на цифровую камеру Leica DFC 420 [30]. Микроскопически в функциональном слое матки проводилась оценка соответствия трансформации желез фазе менструального цикла. Большое значение придавали рельефу поверхностного эпителия эндометрия, используя морфометрический метод с последовательным изучением 10 полей зрения, в каждом из которых определялось процентное количество клеток пиноподий с помощью светового микроскопа Leica DMLB при увеличении $\times 400$. Для определения рецептивности эндометрия в биоптатах также исследовался уровень экспрессии рецепторов к стероидным гормонам в железистом и стромальном компонентах эндометрия. Иммуногистохимическое окрашивание производилось в иммуноштейнере Ventana BenchMark ULTRA IHC/ISH (Ventana Medical Systems, США) с использованием антител: Ventana CONFIRM anti-Progesterone Receptor (PR) (1E2) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (США), связывающихся с PR-A и PR-B, и Ventana CONFIRM anti-Estrogen Receptor (ER) (SP1) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (США), связывающихся с ER1. Оценку ИГХ – реакции производили полуколичественным методом с использованием метода гистологического подсчета HS (Histochemical Score): осуществлялся подсчет числа клеток с положительной ядерной экспрессией на 100 клеток в 10 полях зрения на увеличении $\times 200$ по формуле:

$$HS = \sum P(i) \times i,$$

где i — интенсивность окрашивания со значе-

нием 0, 1, 2 или 3; P_i — процент окрашенных клеток для каждой интенсивности (негативная, слабая, умеренная, сильная).

Результаты ИГХ – реакции для PR и ER оценивали в баллах: 0–10 – отсутствие экспрессии, 11–100 – слабая экспрессия, 101–200 – умеренная, 201–300 – выраженная. Подсчет экспрессии ER и PR производился с учетом норм характерных для средней стадии фазы секреции менструального цикла. При этом в расчет принимались отклонения экспрессии гормонов от референтных значений характерных для этой фазы цикла.

Статистический анализ данных осуществляли с помощью пакетов для ПК: Statistica 13.3 и Microsoft Excel 2019. Изучаемые параметры сравниваемых групп представлены в виде медианного значения, межквартильного размаха и размаха данных – Me [25% – 75%], (min – max). Статистическую значимость различий между двумя группами оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни в связи с ненормальным распределением полученных данных. Отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнительном анализе исследуемых двух групп определено, что медианный возраст пациенток с диффузной формой аденомиоза 38,5 [36–41], (33 – 42) был значимо выше, чем у обследуемых с узловой формой 34 [29,5 – 37], (23 – 42) (таблица 1).

По результатам ИГХ-исследования с антителами к рецепторам эстрогена и прогестерона в среднюю стадию фазы секреции у 100% обследуемых определена положительная ядерная экспрессия, однако имелись различия в количестве положительно окрашенных клеток и интенсивности окрашивания. При сравнительном анализе уровней экспрессии ER и PR в стромальном и железистом компонентах эндометрия у исследуемых с диффузной формой аденомиоза выявлено достоверное повышение экспрессии ER в ядрах железистых клеток 90,5 [75 – 97], (59 – 108) в сравнении с пациентками группы сравнения 74,5 [70,75 – 82], (59 – 90) (табл. 2, рис. 1).

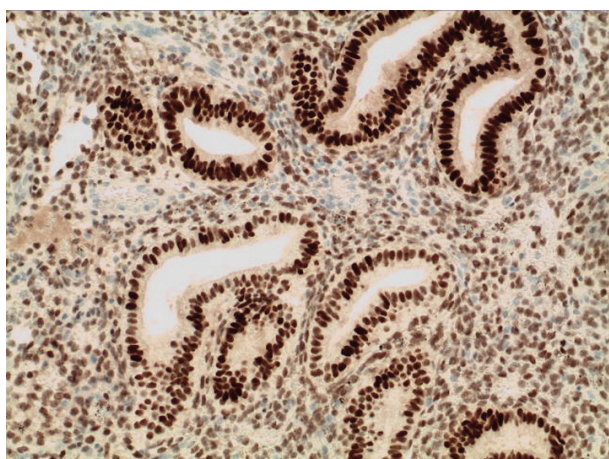
При оценке аналогичных показателей среди наблюдаемых с узловой формой аденомиоза верифицированы значимые отклонения в секреции как ER, так и PR в железистых клетках: в исследуемой группе маркеры экспрессии эстрогеновых 99,5 [86 – 106,25], (95 – 119) и прогестероновых рецепторов 42 [38,75 – 49,25], (19 – 64) были статистически значимо выше, чем в группе сравнения (ER – 74,5 [70,75 – 82], (59 – 90); PR – 32 [26,75 – 40], (18 – 48) (табл. 3, рис. 2).

Таблица 1.

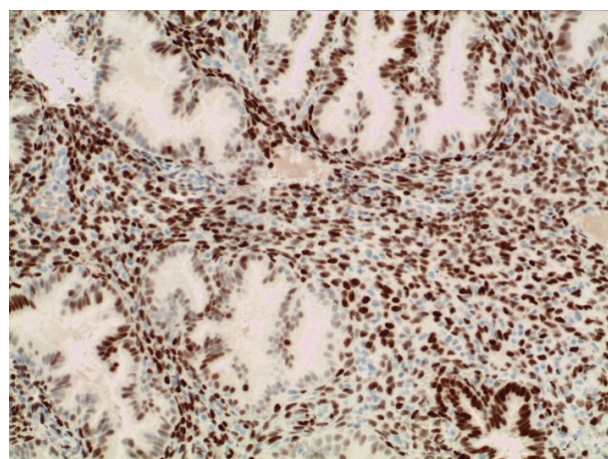
Сравнительная характеристика уровня экспрессии пиноподий, рецепторов к эстрогену и прогестерону в среднюю стадию фазы секреции у пациенток с диффузной и узловой формами аденомиоза

Исследуемые показатели	Медианное значение [верхний квартиль – нижний квартиль] (минимум – максимум)		Значение U Манна-Уитни	p - уровень значимости
	Диффузная форма аденомиоза, n=30	Узловая форма аденомиоза, n=30		
Возраст	38,5 [36 – 41] (33 – 42)	34 [29,5 – 37] (23 – 42)	155,5**	<0,001
ER [железистый компонент] (HS)	90,5 [75 – 97] (59 – 108)	99,5 [106,25 – 86,00] (59 – 119)	303*	0,03
ER [стромальный компонент] (HS)	91 [80 – 101,75] (63 – 112)	93 [104,00 – 84,5] (91 – 112)	382,0	0,31
PR [железистый компонент] (HS)	37 [30 – 42] (18 – 56)	42 [42,25 – 38,75] (19 – 64)	275,5**	0,01
PR [стромальный компонент] (HS)	239,50 [231 – 249,25] (221 – 266)	242,50 [250,50 – 234,25] (221 – 266)	404,5	0,5
Развивающиеся пиноподии [%]	0 [0 – 0] (0 – 50)	0 [0 – 0] (0 – 20)	388	0,08
Развитые пиноподии [%]	035 [0 – 61,25] (0 – 80)	20 [45 – 0] (0 – 70)	359	0,17
Регрессирующие пиноподии [%]	0 [0 – 0] (0 – 60)	0 [6,25 – 0] (0 – 40)	412	0,63

Примечание: ER – эстрогеновые рецепторы, PR – прогестероновые рецепторы. * – различия достоверны на уровне значимости $p < 0,05$; ** – различия достоверны на уровне значимости $p < 0,01$



А

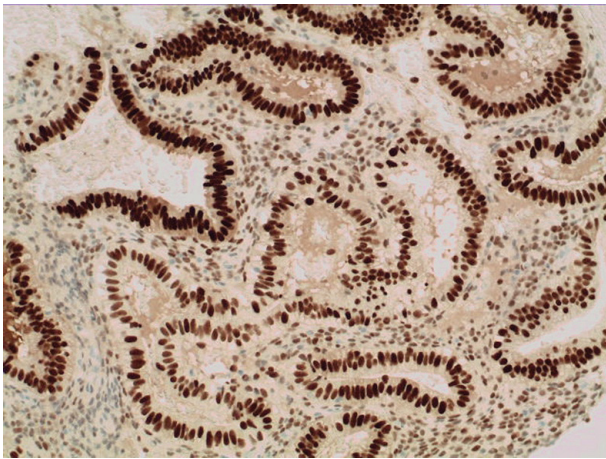


Б

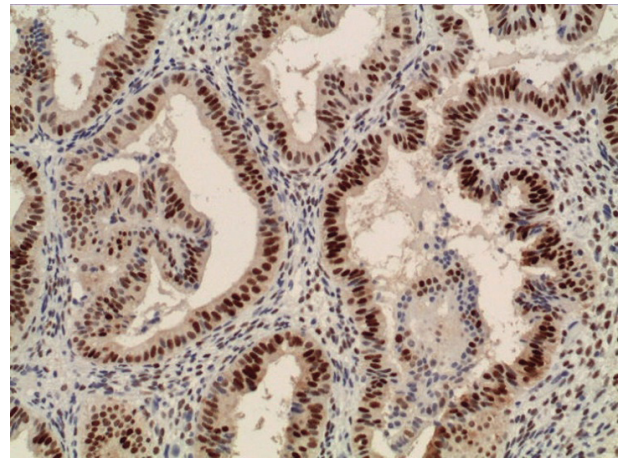
Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование с антителами к эстрогеновым (ER) и прогестероновым (PR) рецепторам у пациенток с диффузной формой аденомиоза: А – повышение уровня экспрессии ER в железистом компоненте эндометрия, нормальная экспрессия ER в ядрах стромальных клеток; Б – нормальный уровень экспрессии PR в железистом и стромальном компартментах эндометрия. Иммуногистохимическая реакция, $\times 200$.

В отношении степени продукции ER и PR в стромальном компартменте эндометрия значимых различий констатируется не было. Проводя параллель показателей рецепторного статуса среди пациенток двух групп, обнаружено, степень

выраженности нарушений экспрессии ER и PR при узловой форме аденомиоза (ER – 99,5 [106,25 – 86], (59 – 119); PR – 42 [38,75 – 49,25], (19 – 64)) была значительно выше, чем при диффузной форме (ER – 90,5 [75 – 97], (59 – 108); PR – 37 [30 – 42], (18 – 56).



А



Б

Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование с антителами к эстрогеновому (ER) и прогестероновому (PR) рецепторам у пациенток с узловой формой аденомиоза: А – повышение уровня ER в железистом компоненте эндометрия, нормальная экспрессия в строме слизистой матки; Б – повышение уровня PR в железистом компоненте эндометрия, нормальная экспрессия PR в строме слизистой матки. Иммуногистохимическая реакция, $\times 200$.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика уровня экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону в среднюю стадию фазы секреции у пациенток с диффузной формой аденомиоза и группой сравнения

Иммуногистохимическая реакция с антителами к ER и PR	Медианное значение [верхний квартиль – нижний квартиль] (минимум – максимум)		Значение U Манна-Уитни	p - уровень значимости
	Диффузная форма аденомиоза, n=30	Группа сравнения, n=30		
ER (железистый компонент) (HS)	90,5 [75 – 97] (59 – 108)	74,5 [70,75 – 82] (59 – 90)	196,5**	<0,001
ER (стромальный компонент) (HS)	91 [80 – 101,75] (63 – 112)	93 [84,25 – 101,75] (71 – 112)	406	0,51
PR (железистый компонент) (HS)	37 [30 – 42] (18 – 56)	32 [26,75 – 40] (18 – 48)	350,5	0,14
PR (стромальный компонент) (HS)	239 [231 – 249] (221 – 266)	236 [229,75 – 246,5] (220 – 266)	375,5	0,27

Примечание: ER – эстрогеновые рецепторы, PR – прогестероновые рецепторы. * - различия достоверны на уровне значимости $p < 0,05$; ** - различия достоверны на уровне значимости $p < 0,01$

Таблица 3.

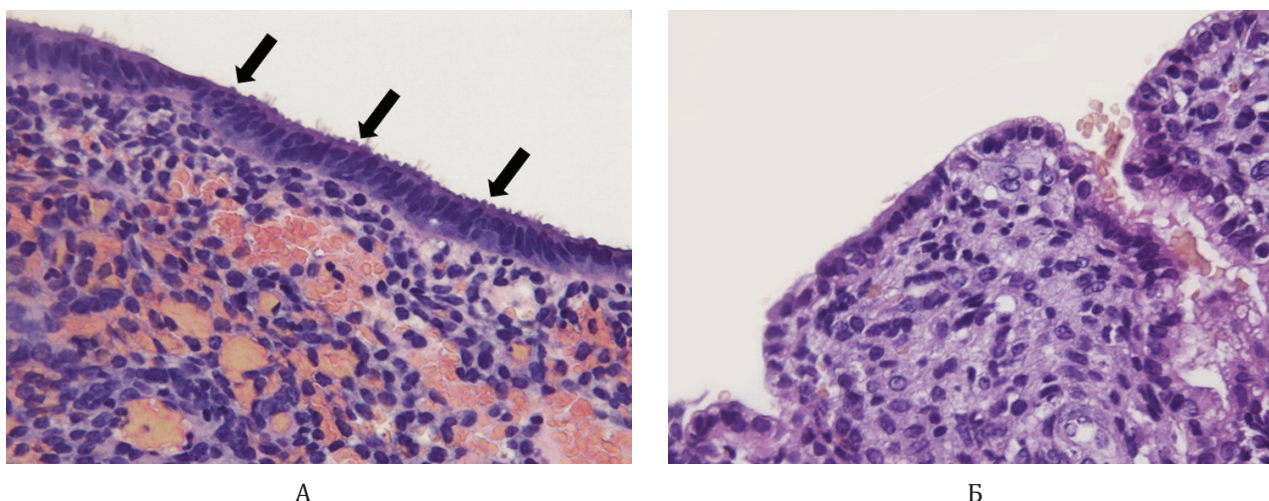
Сравнительная характеристика уровня экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону у пациенток с узловой формой аденомиоза и группой сравнения

Иммуногистохимическая реакция с антителами к ER и PR	Медианное значение [верхний квартиль – нижний квартиль] (минимум – максимум)		Значение U Манна-Уитни	p - уровень значимости
	Узловая форма аденомиоза n=30	Группа сравнения n=30		
ER (железистый компонент) (HS)	99,5 [86 – 106,25] (95 – 119)	74,5 [70,75 – 82] (59 – 90)	112,5**	<0,001
ER (стромальный компонент) (HS)	93 [84,5 – 104] (71 – 112)	93 [84,25 – 101,75] (71 – 112)	431	0,78
PR (железистый компонент) (HS)	42 [38,75 – 49,25] (19 – 64)	32 [26,75 – 40] (18 – 48)	182**	<0,001
PR (стромальный компонент) (HS)	242,5 [234,25 – 250,5] (221 – 266)	236 [229,75 – 246,5] (220 – 266)	331	0,08

Примечание: ER – эстрогеновые рецепторы, PR – прогестероновые рецепторы. * - различия достоверны на уровне значимости $p < 0,05$; ** - различия достоверны на уровне значимости $p < 0,01$

При исследовании данных морфометрической оценки биоптатов эндометрия выявлено снижение способности поверхностного эпителия к фор-

мированию пиноподий как в группе пациенток с диффузной формой, так и узловой формой аденомиоза (рис. 3).



А

Б

Рис. 3. Пиноподии в эндометрии у пациенток с диффузной и узловой формой аденомиоза: А – на поверхности эпителия эндометрия определяются немногочисленные зрелые пиноподии (15-20%) у пациенток с диффузной формой аденомиоза (стрелки); Б – на поверхности апикальной мембраны не визуализируются пиноподии у пациенток с узловой формой аденомиоза. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

В первой группе у 26/30 (86,6%) обследуемых развивающиеся пиноподии были немногочисленными, у 4/30 (14,4%) исследуемых – умеренными; зрелые безреснитчатые эпителиоциты у 10/30 (33,3%) пациенток занимали 60-70% поверхностного эпителия, у 8/30 (26,7%) – 35-40%, у 12/30 (40,0%) не более 15% апикальной мембраны. Во второй группе развивающиеся куполообразные выпячивания у всех 30 (100%) пациенток были немногочисленными; развитые цитоплазматические выросты у 2/30 (6,67%) пациенток – обильными, у 5/30 (16,67%) – умеренными, у 17/30 (56,67%) – немногочисленными. Выявленные изменения могут свидетельствовать о негативном влиянии аденомиоза на формирование пиноподий на апикальной поверхности слизистой оболочки матки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Аденомиоз ведет к нарушению морфофункционального состояния и рецептивности эндометрия. Проведенный анализ определил наличие гиперэстрогенного фона в слизистой оболочке матки, который характеризовался значительным повышением уровня экспрессии ER в железистом компоненте эндометрия как у исследуемых с диффузной формой, так и с узловой формой аденомиоза по сравнению с группой сравнения. Кроме того, у исследуемых с узловой формой были завышены показатели секреции PR в железистом компартменте эндометрия. При сравнительном анализе двух групп степень выработки ER и PR в ядрах железистых ацинусов была выше у пациенток с узловой формой аденомиоза. Полученные результаты свидетельствуют о снижении рецептивности эндометрия у всех обследуемых с аденомиозом, что согласуется с исследованиями других авторов [31,

32, 33], а персонифицированная оценка указывала на более выраженные отклонения в изучаемых показателях у пациенток с узловой формой при сопоставлении с диффузной формой.

Выявленное в настоящем исследовании снижение количества пиноподий на апикальной поверхности эндометрия в обеих группах констатирует о задержке секреторной трансформации слизистой оболочки матки и своевременного открытия «имплантационного окна», редукция клеток в группе с узловой формой аденомиоза была более выражена.

Обращает на себя внимание, что узловая форма аденомиоза встречается преимущественно у наблюдаемых младшего репродуктивного возраста и сопряжена с более высокой частотой верификации эндометриальной дисфункции, что коррелирует с данными, полученными в работах других исследователей [12, 34]. Полученные результаты особенно важны для своевременной диагностики, подбора тактики ведения и адекватной современной терапии с целью дальнейшего сохранения и повышения репродуктивной функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие аденомиоза сопровождается развитием эндометриальной дисфункции, которая влияет на степень снижения рецептивности эндометрия к половым гормонам в железистом и стромальном компонентах. Проведенное исследование выявило, что наличие у обследуемых репродуктивного возраста той или иной формы аденомиоза неизбежно приводит к нарушениям морфо-функционального состояния и снижению рецептивных способностей слизистой оболочки матки, при узловой форме заболевания степень выявленных нарушений была выше.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Vannuccini S, Tosti C, Carmona F et al. Pathogenesis of adenomyosis: an update on molecular mechanisms. *Reprod Biomed Online* 2017;35(5):592–601. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.06.016>.
2. García-Solares J, Donnez J, Donnez O, Dolmans MM. Pathogenesis of uterine adenomyosis: invagination or metaplasia? *Fertil Steril* 2018;109(3):371–379. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.12.030>.
3. Vannuccini S, Petraglia F. Recent advances in understanding and managing adenomyosis. *F1000Res* 2019;8:F1000 Faculty Rev-283. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17242.1>.
4. Halvorson LM, Giudice LC, Stewart EA. Eye to the future in adenomyosis research. *Semin Reprod Med* 2020;38(2–03):197–200. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721503>.
5. Радзинский В.Е., Оразов М.Р., Токтар Л.Р. с соавт. Вклад хронического эндометрита в нарушения репродуктивной системы у пациенток с повторными неудачами имплантации. *Гинекология* 2021;23(1):102–106. <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.1.200671>.
- Radzinsky VE, Orazov MR, Toktar LR et al. The contribution of chronic endometritis to reproductive system disorders in patients with repeated implantation failures. *Gynecology* 2021;23(1):102–106. (In Russ.). <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.1.200671>.
6. Demirdag E, Guler I, Cevher Akdulum MF et al. Subsequent IVF outcomes following antibiotic therapy for chronic endometritis in patients with recurrent implantation failure. *J Obstet Gynecol Res* 2021;47(12):4350–4356. <https://doi.org/10.1111/jog.15037>.
7. Cai H, Xie J, Shi J, Wang H. Efficacy of intrauterine insemination in women with endometrioma-associated subfertility: analysis using propensity score matching. *BMC Pregnancy Childbirth* 2022;22(1):12. <https://doi.org/10.1186/s12884-021-04342-y>.
8. Chapron C, Marcellin L, Borghese B, Santulli P. Rethinking mechanisms, diagnosis and management of endometriosis. *Nat Rev Endocrinol* 2019;15(11):666–682. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0245-z>.
9. Koninckx PR, Fernandes R, Ussia A et al. Pathogenesis based diagnosis and treatment of endometriosis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2021;12:745548. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.745548>.
10. Ferreira de Souza LRM, Alencar De Nicola AL, De Nicola H. Atlas of imaging in infertility: a complete guide based in key images. 2017; Springer: 213.
11. Гришкина А.А., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И. с соавт. Морфологические изменения и особенности экспрессии факторов апоптоза в эндометрии женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом. *Современные проблемы науки и образования* 2019;5:115.
- Grishkina AA, Chistyakova GN, Remizova AI et al. Morphological changes and characteristics of the expression of apoptosis factors in the endometrium of women with infertility due to endometriosis. *Modern problems of science and education = Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* 2019;5:115. (In Russ.).
12. Джамалутдинова К.М., Козаченко И.Ф., Гус А.И., Адамян Л.В. Современные аспекты патогенеза и диагностики аденомиоза. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение* 2018;1:29–34. <https://doi.org/10.18565/aig.2018.1.29-34>.
- Dzhamalutdinova K.M., Kozachenko I.F., Gus A.I., Adamyan L.V. Modern aspects of pathogenesis and diagnosis of adenomyosis. *Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training* 2018;1:29–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.18565/aig.2018.1.29-34>.
13. Bourdon M, Santulli P, Oliveira J et al. Focal adenomyosis is associated with primary infertility. *Fertil Steril* 2020;114(6):1271–1277. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.06.018>.
14. Szwarc MM, Hai L, Gibbons WE et al. Early growth response 1 transcriptionally primes the human endometrial stromal cell for decidualization. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019;189:283–290. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.01.021>.
15. Михалева Л.М., Соломатина А.А., Хованская Т.Н. с соавт. Морфофункциональное состояние и рецептивность эндометрия у пациенток с эндометриозом яичников. *Проблемы репродукции* 2020;26(3):68–75. <https://doi.org/10.17116/repro20202603168>.
- Mikhalyova LM, Solomatina AA, Khovanskaya TN et al. Morphological and functional state of the endometrium and its receptivity in patients with ovarian endometriosis. *Russian Journal of Human Reproduction* 2020;26(3):6875. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro20202603168>.
16. Mikhaleva LM, Solomatina AA, Milovanov AP et al. Histomorphological and functional features of the eutopic endometrium in patients with ovarian endometriosis after surgery—a clinical study. *Reprod Sci* 2021;28(8):2350–2358. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00508-3>.
17. Craciunas L, Gallos I, Chu J et al. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2019;25(2):202–223. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmy044>.
18. Соломатина А.А., Хамзин И.З., Тюменцева М.Ю. Влияние современных методов гемостаза на овариальный резерв при органосохраняющих операциях на яичниках. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение* 2018;6(4):45–51. <https://doi.org/10.24411/2303-9698-2018-14005>.
- Solomatina AA, Khamzin IZ, Tyumentseva MYu. Influence of modern methods of hemostasis on ovarian reserve during ovarian preservation operations. *Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training* 2018;6(4):45–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2303-9698-2018-14005>.
19. Соломатина А.А., Конопляников А.Г., Хамзин И.З. с соавт. 3D-УЗИ в оценке имплантационных свойств эндометрия после органосохраняющих операций по поводу эндометриозных кист яичников. *Доктор.Ру* 2020;8(19):66–70. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2020-19-8-66-70>.
- Solomatina AA, Konoplyannikov AG, Khamzin IZ et al. 3D-ultrasonography for assessing endometrial receptivity to

- implantation after conservative surgery for ovarian endometriomas. *Doctor.Ru* 2020;19(8):66–70. (in Russ.). <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2020-19-8-66-70>.
20. Чухнина Е.Г., Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л. с соавт. Эффективность оценки экспрессии генов гомеобокса в прогнозировании исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Якутский медицинский журнал* 2021;3:33–37.
- Chukhnina EG, Voropaeva EE, Kazachkov EL et al. efficacy of homeobox gene expression assessment in predicting the outcomes of assisted reproductive technology programs. *Yakutsk Medical Journal* 2021;3:33–37. (In Russ.).
21. Соломатина А.А., Хамзин И.З., Тюменцева М.Ю. с соавт. Овариальный резерв и имплантационные свойства эндометрия у пациенток с бесплодием ассоциированным ЭОЯ. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии* 2021;1(20):64–70.
- Solomatina AA, Khamzin IZ, Tyumentseva MYu et al. Ovarian reserve and implantation properties of the endometrium in patients with infertility associated with EOS. *Voprosy of gynecology, obstetrics and perinatology* 2021;1(20):64–70. (In Russ.).
22. Lessey BA, Young SL. What exactly is endometrial receptivity? *Fertil Steril* 2019;111(4):611–617. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.009>.
23. Волкова Л.В., Лисенкова А.Д., Антишина А.А. Экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону эндометрия при бесплодии. *Аллея науки* 2017;2(12):428–430.
- Volkova L.V., Lisenkova A.D., Antishina A.A. Expression of receptors to estrogens and progesterone of endometrium in infertility. *Science Alley = Alleja nauki* 2017;2(12):428–430. (In Russ.).
24. Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л. с соавт. Программы вспомогательных репродуктивных технологий: клинические исходы и влияние витамина D. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения* 2020;8(3):29–38.
- Voropaeva YeE, Kazachkova EA, Kazachkov EL et al. Assisted reproductive technology programs: clinical outcomes and the effect of vitamin D. *Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training* 2020;8(3):29–38. (In Russ.).
25. Филиппова Е.С., Козаченко И.Ф., Быков А.Г. с соавт. Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников (обзор литературы). *Проблемы репродукции* 2017;23(2):72–80. <https://doi.org/10.17116/repro201723272-80>.
- Fillippova ES, Kozachenko IF, Bykov AG et al. A modern view on ovarian reserve in women of reproductive age with endometriomas (a review). *Problems of Reproduction* 2017;23(2):72–80. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro201723272-80>.
26. Кибанов М.В., Махмудова Г.М., Гохберг Я.А. Поиск идеального маркера для оценки рецептивности эндометрия: от гистологии до современных молекулярно-генетических подходов. *Альманах клинической медицины* 2019;47(1):12–25.
- Kibanov MV, Makhmudova GM, Gokhberg JA. Search for an ideal marker for assessment of endometrial receptivity: from histology to modern molecular genetic approaches. *Almanac of Clinical Medicine* 2019;47(1):12–25. (In Russ.).
27. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Коган И.Ю., Олина А.А. Эндометрий. Атлас. Медиа Бюро Статус Презенс: 2022. С. 184.
- Tolibova GH, Tral TG, Kogan IY, Olina AA. Endometrium. Atlas. Media Bureau Status Presence: 2022. 184 p. (In Russ.).
28. Казачков Е.Л., Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А. с соавт. Морфологическая характеристика эндометрия у пациенток с миомой матки и хроническим эндометритом при бесплодии. *Архив патологии* 2019;81(6):41–48. <https://doi.org/10.17116/patol20198106141>.
- Kazachkov EL, Voropaeva EE, Kazachkova EA et al. Endometrial morphological characteristics in patients with hysteromyoma and chronic endometritis in infertility. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii* 2019;81(6):41–48. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20198106141>.
29. Казачкова Э.А., Затворницкая А.В., Воропаева Е.Е. с соавт. Оценка пролиферативных и антипролиферативных свойств клеток эндометрия при его гиперплазии, ассоциированной с хроническим эндометритом. *Journal of Siberian Medical Sciences* 2019;1:28–35. <https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-1-28-35>.
- Kazachkova EA, Zatvornitskaya AV, Voropaeva EE et al. Evaluation of the proliferative and antiproliferative properties of endometrial cells during its hyperplasia associated with chronic endometritis. *Journal of Siberian Medical Sciences* 2019;1:28–35. <https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-1-28-35>.
30. Тумасян Е.А., Бирюков А.Е., Грачева Н.А. с соавт. Рецептивный статус эндометрия при доброкачественных опухолях яичников до и после органосохраняющих операций. *Архив патологии* 2022;84(4):2937.
- Tumasyan YeA, Biryukov AE, Gracheva NA et al. Endometrial receptive status in benign ovarian tumors before and after organ-preserving operations. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii* 2022;84(4):2937. (In Russ.).
31. Buggio L, Drudi D, Barbara G. Adenomyosis: impact on fertility and obstetric outcomes. *Reprod Sci* 2021;28(11):3081–3084. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00679-z>.
32. Munro MG. Uterine polyps, adenomyosis, leiomyomas, and endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2019;111(4):629–640. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.008>. PMID: 30929720.
33. Crha K, Jeřeta M, Pilka R et al. Adenomyosis - its possible effect on endometrial function and receptivity. *Ceska Gynekol* 2021;86(3):205–209. <https://doi.org/10.48095/cccg2021205>. PMID: 34167314.
34. Piccioni MG, Rosato E, Muzii L et al. Sonographic and clinical features of adenomyosis in women in “early” (18–35) and “advanced” (>35) reproductive ages. *Minerva Obstet Gynecol* 2021;73(3):354–361. <https://doi.org/10.23736/S2724-606X.21.04755-2>.

Сведения об авторах:

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН;
Антонина Андреевна Соломатина – доктор медицинских наук;
Парвана Джабировна Исмаилова – аспирант;
Елизавета Александровна Тумасян – аспирант;
Сергей Александрович Михалев – кандидат медицинских наук;
Андрей Евгеньевич Бирюков – кандидат медицинских наук;
Наталья Александровна Грачева – кандидат медицинских наук;
Айсел Илгам кызы Гашимова – аспирант;
Светлана Валерьевна Регул – аспирант;
Зарема Зиядиновна Халифаева – аспирант.

Information about the authors:

Lyudmila M. Mikhaleva – Doctor of Science (Medicine), Professor, Corresponding Member of the RAS;
Antonina A. Solomatina – Doctor of Science (Medicine);
Parvana J. Ismailova – Postgraduate student;
Elizaveta A. Tumasyan – Postgraduate student;
Sergey A. Mikhalev – Ph.D. in medicine;
Andrey E. Biryukov – Ph.D. in medicine;
Natalia A. Gracheva – Ph.D. in medicine;
Aysel I. Gashimova – Postgraduate student;
Svetlana V. Regul – Postgraduate student;
Zarema Z. Khalifaeva – Postgraduate student.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Ethics approval The study complies is approved by the local ethics committee.

Информированное согласие получено у всех участников исследования.

Informed consent was obtained from all study participants.

Статья поступила в редакцию 23.01.2023; одобрена после рецензирования 20.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 23.01.2023; approved after reviewing 20.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ХРОНИЧЕСКИЙ ЭНДОМЕТРИТ И МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ЭНДОМЕТРИЯ: ЕСТЬ ЛИ СВЯЗЬ?

Евгений Леонидович Казачков¹, Александра Вадимовна Затворницкая²,
Элла Алексеевна Казачкова³, Екатерина Евгеньевна Воропаева⁴

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

²monostyle@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9245-3749>

³kazachkovaea@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>

⁴katya_voropaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0800-3380>

Аннотация

Введение. Одним критериев нарушенной репарации ДНК является микросателлитная нестабильность (MSI) – результат функциональной недостаточности системы репарации неспаренных нуклеотидов (MMR) – комплекса белков (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6). Данных об изучении MSI при хроническом эндометрите (ХЭ) в доступной литературе не обнаружено. **Цель исследования** – определить структурные особенности микросателлитной нестабильности в эндометрии у пациенток с хроническим воспалением слизистой оболочки матки. **Материалы и методы.** I группу пациенток составили 30 женщин с морфологически верифицированным ХЭ высокой степени активности, II группу – 30 пациенток с ХЭ низкой степени активности, III – 30 женщин, обратившихся с целью планирования беременности, с гистологически неизменённым эндометрием. Степень выраженности ХЭ у пациенток I и II групп была разнообразной. Проанализированы уровни экспрессии в эндометрии MLH-1, MSH-2, MSH-6- и PMS-2-белков с оценкой площади окрашивания ядер и цитоплазмы пораженных клеток на всей площади среза. Использованы непараметрические статистические методы с вычислением критерия Манна-Уитни. Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0,05. **Результаты.** Зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии белков MMR в образцах эндометрия пациенток I группы по сравнению с аналогичными показателями у женщин II и III групп. При анализе уровня экспрессии белков MMR в зависимости от степени выраженности ХЭ статистически значимых результатов не обнаружено. **Обсуждение.** Зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии изучаемых маркеров (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) в образцах эндометрия пациенток с ХЭ низкой степени активности по сравнению с биоптатами слизистой оболочки матки с ХЭ высокой степени активности и образцами эндометрия средней стадии фазы секреции. Описанные морфологические особенности слизистой оболочки матки у пациенток с ХЭ низкой степени активности согласуется с результатами исследований других авторов. В литературе представлены указания на структурные особенности MSI при предопухолевых и опухолевых процессах в слизистой оболочке матки. **Заключение.** Образцы эндометрия при ХЭ низкой степени активности и различной степени выраженности отличаются статистически значимо более низким уровнем экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 при сравнении с биоптатами с ХЭ высокой степени активности и образцами нормального эндометрия, что может свидетельствовать о патогенетической неоднородности развития воспаления в эндометрии.

Ключевые слова. Хронический эндометрит, микросателлитная нестабильность эндометрия.

Для цитирования: Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Воропаева Е.Е. Хронический эндометрит и микросателлитная нестабильность эндометрия: есть ли связь? Уральский медицинский журнал 2023;22(2):16-23. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-16-23>.

© Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Воропаева Е.Е., 2023

© Kazachkov E.L., Zatvornitskaya A.V., Kazachkova E.A., Voropaeva E.E., 2023

CHRONIC ENDOMETRITIS AND MICROSATELLITE INSTABILITY OF THE ENDOMETRIUM: IS THERE A CONNECTION?

Evgenij L. Kazachkov¹, Aleksandra V. Zatvornitskaya², Ella A. Kazachkova³,
Ekaterina E. Voropaeva⁴

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

² monostyle@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9245-3749>

³ kazachkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>

⁴ katya_voropaeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0800-3380>

Abstract

Introduction One of the criteria of impaired DNA repair is microsatellite instability (MSI) resulting from functional insufficiency of the mismatched nucleotide repair (MMR) system, a complex of proteins (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6). No data on the study of MSI in chronic endometritis (CE) were found in the available literature. **The aim** of the study was to determine the structural features of microsatellite instability in the endometrium in female patients with chronic inflammation of the uterine mucosa. **Materials and methods** Group I consisted of 30 women with morphologically confirmed high-grade CE; Group II consisted of 30 patients with low-grade CE; Group III consisted of 30 women who sought pregnancy planning and had histologically unchanged endometrium. The degree of CE in patients in groups I and II was variable. We analyzed the expression levels of MLH-1, MSH-2, MSH-6, and PMS-2-proteins in the endometrium by estimating the staining area of nuclei and cytoplasm of the affected cells over the entire slice area. Nonparametric statistical methods with Mann-Whitney test were used. The value of probability of error was set at 0.05. **Results** There was a statistically significant decrease in the level of MMR protein expression in the endometrial samples from the Group I patients compared to the same indices in the Group II and III women. No statistically significant results were found when analyzing the level of MMR protein expression depending on the severity degree of CE. **Discussion** There was a statistically significant decrease in the expression level of the markers studied (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) in endometrial specimens from patients with low-activity CE compared to uterine mucosa biopsy specimens from highly active CE and mid-stage endometrial secretion phase specimens. The described morphological features of the uterine mucosa in patients with low-activity CE are consistent with the findings of other authors. The literature provides indications of structural features of MSI in pre-tumor and tumor processes in the uterine mucosa. **Conclusion** Endometrial samples with low activity and various degrees of CE show statistically significantly lower expression levels of MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 when compared to biopsy specimens from highly active CE and normal endometrial samples, which may indicate pathogenetic heterogeneity in the development of inflammation in the endometrium.

Keywords: chronic endometritis, endometrial microsatellite instability.

For citation:

Kazachkov EL, Zatvornitskaya AV, Kazachkova EA, Voropaeva EE. Chronic endometritis and endometrial microsatellite instability: is there a connection? Ural medical journal 2023;22(2):16-23. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-16-23>

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление – комплексная местная либо общая сложная защитно-приспособительная реакция организма, относящаяся к ключевым общепатологическим процессам, развивающаяся в ответ на повреждение, вызванное различными патогенными факторами, целью которой является уничтожение повреждающего агента и восстановление поврежденных тканей [1]. При этом, если острое воспаление является преимущественно защитным механизмом против различных патогенов и играет важную роль в восстановлении тканей после альтерации, то

хроническое воспаление характеризуется, главным образом, воспалительно-деструктивными и дисрегуляторными процессами в поврежденной ткани [2]. Наличие макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов различных типов приводит к синтезу и накоплению на поле хронического воспаления провоспалительных медиаторов (цитокинов, хемокинов, ИФН-γ, липидных соединений и пр.), которые путем совместного координированного воздействия обуславливают повышение частоты мутаций, нестабильность генома и нарушение процесса репарации ДНК [3].

Одним из вариантов нарушения репарации генома является микросателлитная нестабильность (microsatellite instability, MSI) – результат функциональной недостаточности системы репарации неспаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR) – комплекса белков (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6), направленного на узнавание и восстановление коротких фрагментов некомплементарности ДНК. Любой из четырех возможных вариантов отсутствия экспрессии данных генов свидетельствует о дефиците системы MMR, а значит, позволяет говорить о наличии MSI [4, 5].

В онкологии особенности MSI изучены при эндометриоидном раке тела матки [6], раке желудка [7–9], толстой кишки [10–12], щитовидной железы [13], молочной железы [14]. Однако изменения MSI при воспалительных заболеваниях остаются недостаточно изученными. На сегодняшний день воспаление является признанным фактором, способствующим прогрессии онкологического процесса, например, колоректального рака. Наличие MSI отмечено в тканях больных неспецифическим язвенным колитом без видимой дисплазии, что служит основанием предполагать, что MSI появляется на ранних этапах колит-индуцированного канцерогенеза [2].

В случае ряда неопухолевых заболеваниях легких, характеризующихся хроническим воспалительным процессом, зарегистрирован дополнительный вариант MSI – изменения тетра-нуклеотидных локусов или повышенные микросателлитные изменения в отдельных тетра-нуклеотидных повторах (elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide repeats, EMAST) [15, 16]. EMAST связан с функциональным дефицитом MSH-3 в результате транслокации MSH-3 из ядра в цитоплазму, связанной с окислительным стрессом и провоспалительным цитокиновым фоном. Несмотря на то, что в онкологии выявление EMAST чаще определяет группу больных с агрессивным течением онкологического процесса и неблагоприятным прогнозом, в случае патологии легких продемонстрирована возможность возникновения генетической нестабильности без ее ассоциации с неопластической трансформацией [5].

Заслуживает внимания вирусный инфекционный процесс как причина возникновения MSI. В литературе представлены данные о регистрации MSI и ДНК вирусов герпеса I, II типов и цитомегаловируса в измененных тканях при вирусном заболевании склеры [17]. Полагают, что ДНК-содержащие вирусы, встраиваясь в геном клетки-хозяина, приводят к изменению процессов, связанных с репликацией и транскрипцией ДНК, что индуцирует MSI. На возможное влияние вирусной инфекции на микросателлитную нестабильность ДНК указывают и другие авторы. Так, в исследовании A. Naganuma et al. [18] отмечается, что присутствие в гепатоцитах белка вируса гепатита С обуславливало возникновение MSI в клетках печени.

Несмотря на многообразие литературных данных об исследовании MSI при различных воспалительных процессах, данных об изучении MSI при воспалительных поражениях эндометрия в доступной литературе нами не обнаружено. Полагаем, что MSI является не только маркером опухолевой трансформации, но и самостоятельным процессом, который может иметь значение в патогенезе хронического воспаления и требует дальнейшего изучения, что позволит совершенствовать прогностические модели и терапевтическую тактику.

Цель исследования – определить структурные особенности микросателлитной нестабильности в эндометрии у пациенток с хроническим воспалением слизистой оболочки матки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование, одобренное локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, проводили на базе гинекологического отделения ГБУЗ Областной перинатальный центр (г. Челябинск), кафедре Патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск и ее клинической базе – ГБУЗ «Челябинское областное патологоанатомическое бюро». В I группу вошли 30 пациенток, у которых при гистологическом изучении биоптатов слизистой оболочки матки выявлен хронический эндометрит (ХЭ) высокой степени активности и различной степени выраженности; II группу составили 30 женщин с ХЭ низкой степени активности и различной степени выраженности; III группу – 30 соматически и гинекологически здоровых женщин, обратившихся с целью планирования беременности, гистологическое исследование образцов эндометрия которых выявило нормальную слизистую оболочку матки. Критерии включения: информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати, возраст пациенток старше 18 лет. Критерии невключения: аденомиоз, миома матки, подлежащая хирургическому лечению, острые респираторные инфекции.

Исследование имеет дизайн одномоментного нерандомизированного ретроспективного с использованием гистологических, иммуногистохимических, статистических методов.

Образцы эндометрия получали на 18–22 дни менструального цикла с помощью пайпель-биопсии эндометрия. Проводили сравнительное морфологическое исследование образцов слизистой оболочки матки, трактуя морфологические картины в соответствии с общепринятыми критериями. Гистологические препараты готовили по стандартным методикам [19]. Биоптаты эндометрия помещали в 10% раствор нейтрального формалина на 24 часа, затем обезжировали, обезжиживали, парафинизировали в гистологическом автомате по общепри-

нятой методике, изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Гистологическое исследование образцов выполняли путем световой микроскопии при увеличении от $\times 70$ до $\times 1000$.

Степень выраженности ХЭ оценивали по критериям, предложенным Э.А. Казачковой и соавт. [20] и Г.Х. Толибовой и соавт. [21] (для оценки уровня CD138). Степень активности ХЭ определяли путем полуколичественной морфологической оценки воспалительного процесса при ХЭ [20].

Уровень экспрессии MLH-1 в эндометрии определяли с помощью мышиных моноклональных антител (МКАТ) к MLH-1 (клон G168-728; Cell Marque, USA), для анализа экспрессии MSH-2 использовали специфическую сыворотку к белку MSH-2 (клон G219-1129; Cell Marque, USA), оценку уровня экспрессии MSH-6 осуществляли с использованием МКАТ к MSH-6 (клон 44; Cell Marque, USA), а величину экспрессии PMS-2 оценивали с помощью МКАТ к PMS-2 (клон MRQ-28; Cell Marque, USA). Изучение уровня экспрессии иммуногистохимических маркеров было основано на оценке площади коричневого окрашивания ядер и цитоплазмы пораженных клеток на всей площади среза. Для автоматического подсчета позитивно окрашенных клеток были выполнены электронные копии (сканы) микропрепаратов с помощью сканера гистологических препаратов Panoramic-250 компании 3D Histech. Полученные сканы проанализированы программным обеспечением для цифрового анализа изображений QuPath (сборка milestone 4) с применением нейросетевого алгоритма Pixel Classifier при помощи модуля расчета Positive cell detection (PCD) на всей площади отсканированного изображения.

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов с использованием критерия Манна-Уитни; для сравнения в более чем 2-х независимых группах применяли критерий Краскела-Уоллиса. При оценке качественных показателей вычисляли фактические и процентные частоты наблюдений (n, %). Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0,05. Расчеты выполнены с использованием статистического пакета Statistica 13 фирмы StatSoft.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст женщин с ХЭ высокой степени активности (I группа пациенток) составил 38,5 (34,5; 41,5) лет, с ХЭ низкой степени активности (II группа) – 36,5 (32,5; 38) лет, у женщин, обратившихся с целью планирования беременности (III группа) – 37,5 (34,5; 41,5) годам.

При анализе жалоб каждая вторая пациентка (16; 53,3%) с ХЭ высокой степени активности предъявляла жалобы на болевой синдром (дис-

менорея, диспареуния или хроническая тазовая боль), каждая третья женщина (10; 33,3%) жаловалась на нарушения менструального цикла и аномальные маточные кровотечения. Только в 4 (13,3%) случаях пациентки указывали на наличие бесплодия. В группе пациенток с ХЭ низкой степени активности абсолютное большинство женщин (25; 83,3%) были направлены в гинекологическое отделение репродуктологами в связи с бесплодием и подготовкой к программам экстракорпорального оплодотворения. В 5 (16,7%) случаях пациентки обратились за медицинской помощью в связи с болевым синдромом, дисменореей. Женщины III группы, обратившиеся с целью планирования беременности, активных жалоб не предъявляли.

Беременности в анамнезе встречались статистически значимо чаще среди пациенток I (26; 86,7%) и III (21; 70%) групп по отношению к 9 (30%) случаям во II группе пациенток с ХЭ низкой степени активности ($p < 0,01$). Хирургические аборты статистически значимо чаще регистрировались среди пациенток с ХЭ (21 (70%) случай в I группе и 16 (53,3%) – во II) по сравнению с женщинами, планировавшими беременность (III группа) – у 9 (30%) пациенток ($p < 0,05$).

Оценка гинекологического анамнеза показала, что пациенток с ХЭ (I и II группы) отличала коморбидность по воспалительным заболеваниям органов малого таза (ВЗОМТ), доброкачественным заболеваниям молочных желез, миоме матки, тогда как среди женщин, обратившихся с целью планирования беременности, вышеуказанная патология не регистрировалась.

При гистологическом исследовании образцов слизистой оболочки матки у пациенток I группы была отмечена выраженная полиморфноклеточная инфильтрация со значительным количеством диффузно рассеянных лимфоцитов, местами формирующих лимфоцитарные фолликулы, скоплениями плазматических клеток по 6–8 клеток в поле зрения, умеренно представленными диффузно расположенными нейтрофильными гранулоцитами. Кроме того, регистрировались дистрофические изменения покровных эпителиоцитов и клеток желез (гландулоцитов), включая кариопикноз и кариорексис с формированием апоптотных телец, фибробластическая перестройка стромы и сосудов. Именно эти структурные изменения эндометрия позволили диагностировать ХЭ высокой степени активности и различной степени выраженности.

Имуногистохимический анализ показал, что средняя площадь иммунопозитивных структур, экспрессирующих MLH-1, составляет 80,2 (75,3; 87,6)%, PMS-2-позитивных элементов – 78,6 (75,0; 82,0)% (рис. 1 а, б). Средняя площадь структур, иммунопозитивных к MSH-2, составила 77,5 (71,2; 87,6)%, а к MSH-6 – 89,3 (85,4; 92,3)% (рис. 1 в, г).

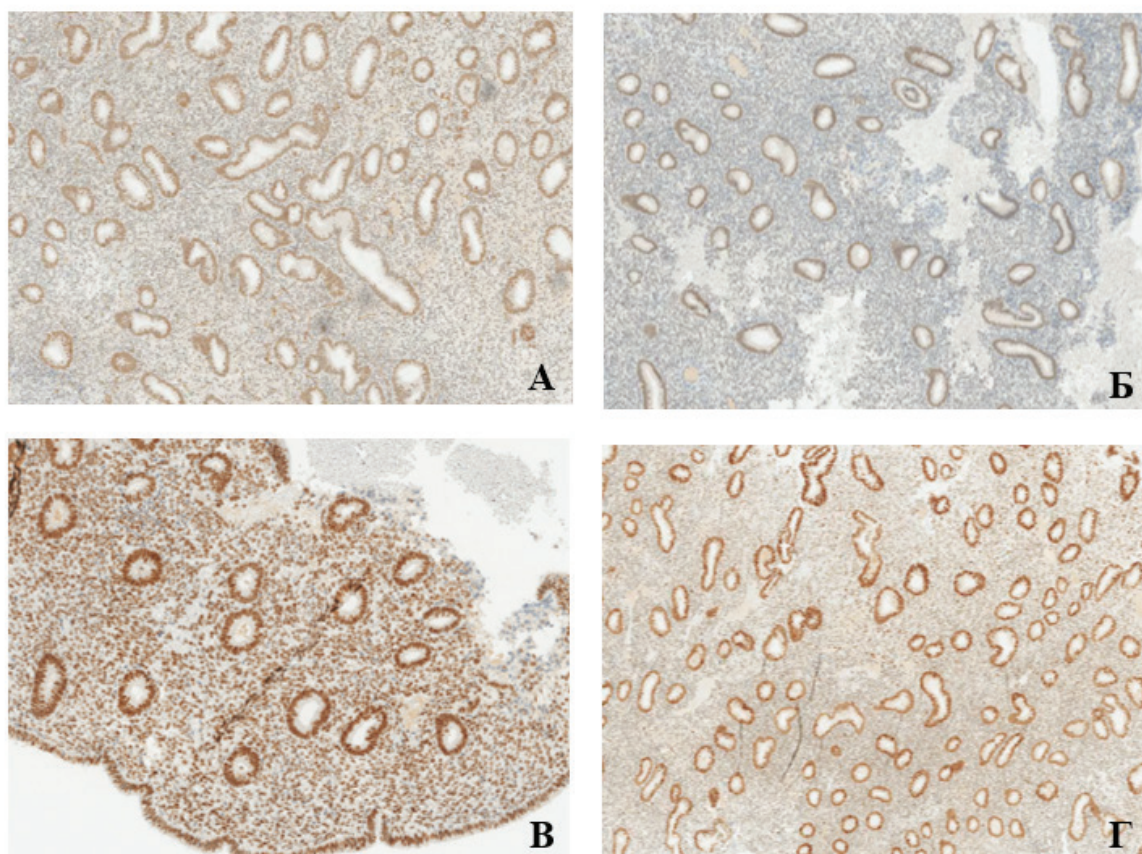


Рис. 1. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при ХЭ высокой степени активности воспалительного процесса. Иммуногистохимический метод с МКАТ против: а – MLH-1; б – PMS-2; в – MSH-2; г – MSH-6; а, б, г – x100, в – x200.

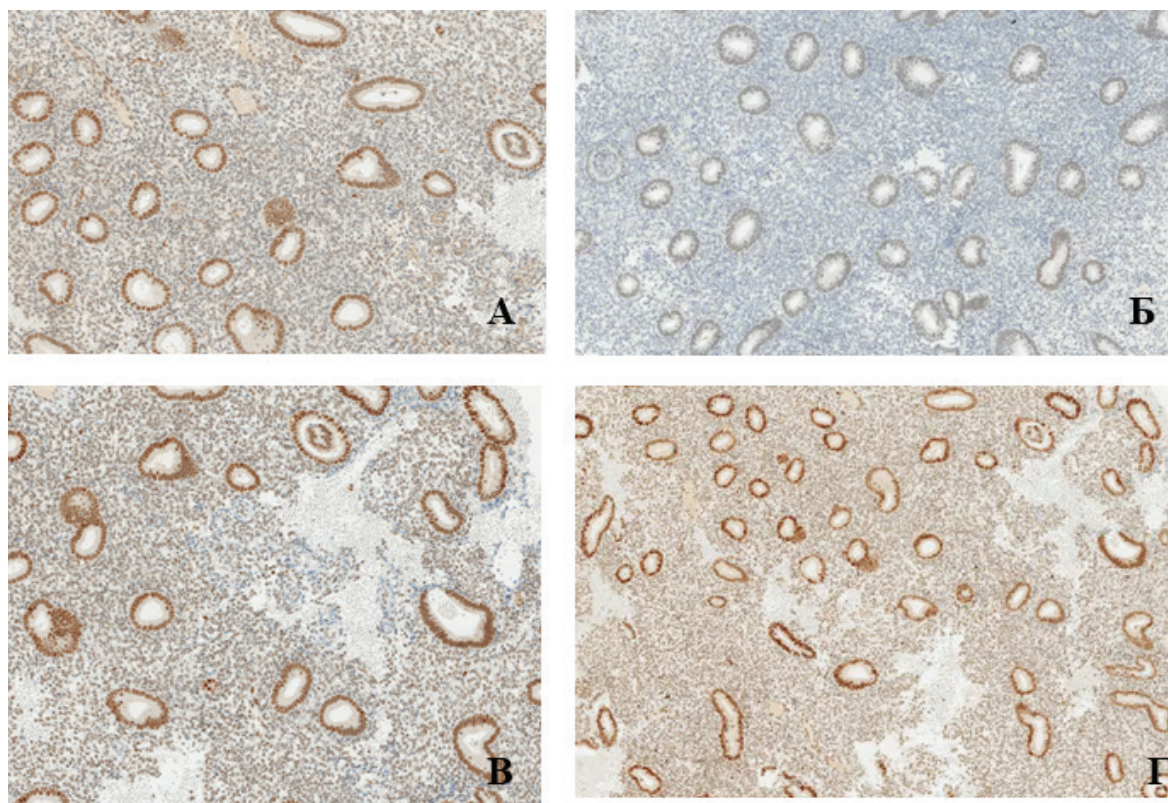


Рис. 2. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при ХЭ низкой степени активности воспалительного процесса. Иммуногистохимический метод с МКАТ против: а – MLH-1; б – PMS-2; в – MSH-2; г – MSH-6; а, б, г – x100, в – x200

Во II группе наблюдали картину ХЭ низкой степени активности и различной степени выраженности. При этом в толще эндометрия определялись диффузно расположенные единичные нейтрофильные гранулоциты, лимфоциты без тенденции к очаговому скоплению, немногочисленные плазматические и множественные фибробласты.

По результатам иммуногистохимического анализа средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 равнялась 58,2 (42,9; 61,3)%, для PMS-2 – 61,8 (54,9; 66,1)% (рисунок 2, а,б). При оценке

экспрессии MSH-2 и MSH-6 средняя площадь иммунопозитивных структур равнялась 47,1 (41,7; 50,5)% и 61,7 (35,4; 89,4)% соответственно (рис. 2 в, г).

Картина строения слизистой оболочки матки женщин, обратившихся с целью планирования беременности (III группа), соответствовала архитектонике эндометрия средней стадии фазы секреции менструального цикла.

Что касается степени выраженности ХЭ, статистически значимых различий в группах пациенток с ХЭ в уровнях экспрессии белков MMR не обнаружено, хотя

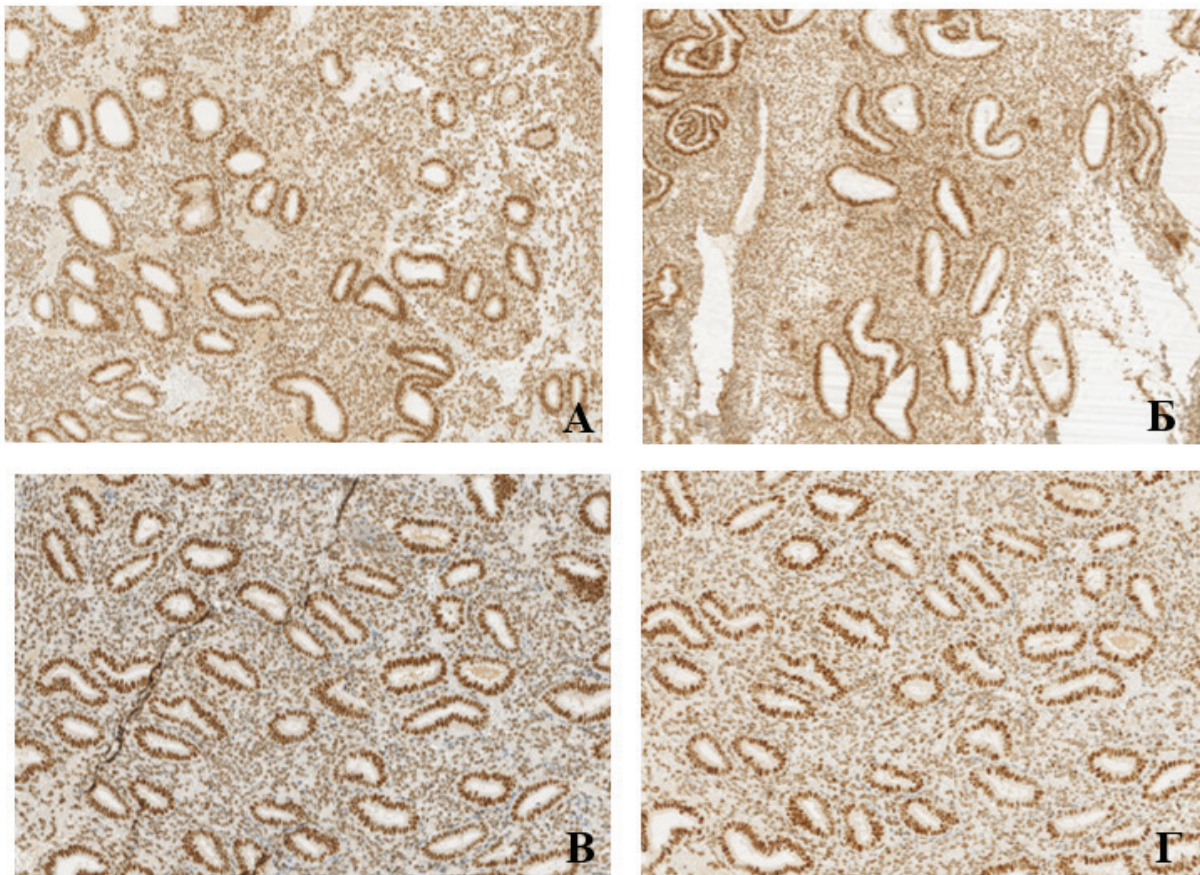


Рис. 3. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR в образцах эндометрия средней стадии фазы секреции менструального цикла. Иммуногистохимический метод с МКАТ против: а – MLH-1; б – PMS-2; в – MSH-2; г – MSH-6; а-г – x100.

и отмечена тенденция к некоторому снижению количества MLH-1-, PMS-2-, MSH-2-, MSH-6-позитивных клеток по мере возрастания степени выраженности воспалительного процесса в эндометрии.

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании результатов проведенного исследования установлено, что пациентки с ХЭ высокой степени активности воспалительного процесса (I группа) статистически значимо чаще предъявляли жалобы на болевой синдром различной локализации и нарушения менструального цикла, а в их анамнезе чаще регистрировались беременности. Что касается женщин с ХЭ низкой степени активности воспалительного процесса (II группа), то в этом контингенте статистически значимо чаще регистрировалось бесплодие. В отличие от пациенток, обратив-

шихся с целью планирования беременности, для женщин с ХЭ (I и II группы) была характерна коморбидность по ВЗОМТ, миоме матки, доброкачественным заболеваниям молочных желез, что согласуется с результатами других исследований [22; 23].

При иммуногистохимическом анализе зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии изучаемых маркеров (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) в образцах эндометрия пациенток с ХЭ низкой степени активности по сравнению с биоптатами слизистой оболочки матки с ХЭ высокой степени активности и образцами эндометрия средней стадии фазы секреции. Описанные морфологические особенности слизистой оболочки матки у пациенток с ХЭ низкой степени активности, а именно, снижение уровня экспрессии белков MMR, согласуется с результатами исследований других авторов. В ли-

тературе представлены указания на структурные особенности MSI при предопухолевых и опухолевых процессах в слизистой оболочке матки [24]. Так, в процессе ответа организма пациентки на предопухолевые трансформации генерируются реактивные соединения кислорода и азота, что приводит к оксидативному повреждению эпителия кишечника со снижением активности MMR-генов. Ряд провоспалительных цитокинов в клетках опухоли (ФНО, IL-1 β и пр.) стимулирует синтез HIF-1 α , простогландинов и реактивных соединений кислорода. Эти соединения вытесняют с-Мус из MSH-2/MSH-6 промоторов, что приводит к снижению уровня экспрессии MSH-2 и MSH-6 в процессе канцерогенеза. Возможно, схожие изменения происходят в слизистой оболочке матки в случае хронического воспаления. Следует отметить, что структурные особенности уровня MSI при ХЭ высокой степени активности не имеют количественных статистически значимых отличий от одноименных параметров при нормальном эндометрии. Полагая, что разная интенсивность экспрессии протеинов MMR при ХЭ в зависимости от степени активности воспалительного процесса может указывать на патогенетические различия в течении хронического

воспаления в эндометрии, что требует дальнейшего изучения с целью разработки тактики ведения пациенток с данной патологией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Образцы слизистой оболочки матки при ХЭ низкой степени активности и различной степени выраженности отличаются статистически значимо более низким уровнем экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 при сравнении с биоптатами с ХЭ высокой степени активности и образцами нормального эндометрия средней стадии фазы секреции менструального цикла. Вероятно, разные уровни снижения экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6 в биоптатах эндометрия при ХЭ различной степени активности указывают на патогенетическую неоднородность развития воспаления и возможность формирования условий для предопухолевой трансформации слизистой оболочки матки. Это позволяет предположить, что MSI появляется на ранних этапах ХЭ-ассоциированного канцерогенеза. Полученные нами данные диктуют необходимость дальнейшего изучения особенностей воспаления при ХЭ с целью персонификации тактики ведения пациентки с указанной патологией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Казачков Е.Л., Осиков М.В. (ред.) Основы патологии: этиология, патогенез, морфология болезней человека: учебник. Москва, ГЭОТАР-Медиа. 2017; 72–93.
Kazachkov E.L., Osikov M.V. (ed.) Fundamentals of pathology: etiology, pathogenesis, morphology of human diseases: textbook. Moscow, GEOTAR-Media. 2017; 72–93. (In Russ.).
2. Сарибекян Э.К., Зубовская А.Г., Шкурников М.Ю. Хроническое воспаление органов желудочно-кишечного тракта и канцерогенез. Биологические аспекты взаимосвязи. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2018;152(4):76–82.
Saribekyan EK, Zubovskaya AG, Shkurnikov MYu. Chronic inflammation of the gastrointestinal tract and carcinogenesis. Biological aspects of the relationship. *Experimental and clinical gastroenterology* 2018;152(4):76–82. (In Russ.).
3. Dawit K, Wook JC, Jennifer C et al. Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2014;49(2):116–139. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.875514>.
4. Трякин А.А., Федянин М.Ю., Цуканов А.С. с соавт. Микросателлитная нестабильность как уникальная характеристика опухолей и предиктор эффективности иммунотерапии. Злокачественные опухоли 2019;9(4):59–69. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69>.
Tryakin AA, Fedyanin MYu, Tsukanov AS et al. Microsatellite instability as a unique characteristic of tumors and a predictor of the effectiveness of immunotherapy. *Malignant tumors* 2019;9(4):59–69. (In Russ.). <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69>.
5. Сычевская К.А., Ерохина М.В., Кравченко С.К., Лепеха Л.Н. Нестабильность микросателлитных повторов при неопухолевых заболеваниях легких: взаимосвязь с воспалением. Практическая пульмонология 2021;1:52–60.
Sychevskaya KA, Erokhina MV, Kravchenko SK, Lepekh LN. Instability of microsatellite repeats in non-tumor lung diseases: relationship with inflammation. *Practical pulmonology* 2021;1:52–60. (In Russ.).
6. Deshpande M, Romanski PA, Rosenwaks Z, Gerhardt J. Gynecological Cancers Caused by Deficient Mismatch Repair and Microsatellite Instability. *Cancers (Basel)* 2020;12(11):3319. <https://doi.org/10.3390/cancers12113319>.
7. Мусаелян А.А., Оганян К.А., Назаров В.Д. с соавт. Микросателлитная нестабильность при раке желудка: основы и клиническое применение. Эффективная фармакотерапия 2021;17(30):12–17. <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2021-17-30-12-17>.
Musaelyan AA, Ohanyan KA, Nazarov VD et al. Microsatellite instability in gastric cancer: fundamentals and clinical application. *Effective pharmacotherapy* 2021;17(30):12–17. (In Russ.) <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2021-17-30-12-17>.
8. Pietrantonio F, Miceli R, Raimondi A et al. Individual patient data meta-analysis of the value of microsatellite instability as a biomarker in gastric cancer. *J Clin Oncol* 2019;37(35):3392–3400. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01124>.
9. Cai L, Sun Y, Wang K et al. Lifeng Wang The better survival of msi subtype is associated with the oxidative stress related pathways in gastric cancer. *Front Oncol* 2020;10:1269. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01269>.
10. Мартыанов А.С., Кулигина Е.Ш., Романько А.А., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты. Альманах клинической медицины 2022;50(1):1–12. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2022-50-002>.
Martyanov AS, Kuligina ES, Romanko AA, Imyaninov EN. Molecular genetic testing of colon cancer: clinical aspects. *Almanac of Clinical Medicine* 2022;50(1):1–12. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2022-50-002>.
11. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В. с соавт. Современные прогностические факторы при колоректальном раке. Колопроктология 2021;20(2):42–49. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2021-20-2-42-49>.

- Kit OI, Gevorkyan YuA, Soldatkina NV et al. Modern prognostic factors in colorectal cancer. *Coloproctology* 2021;20(2):42–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2021-20-2-42-49>.
- 12.Lin A, Zhang J, Luo P. Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front Immunol* 2020;12(11):20–39. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02039>.
- 13.Mastronikolis N, Chrysovergis A, Tsiambas E, Kyrodimos E. Microsatellite instability (MSI) markers in thyroid carcinoma. *J BUON* 2021;26(3):1169.
- 14.Кузнецова О.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю. с соавт. Иммуногистохимическое исследование маркеров MSI при раке молочной железы. Архив патологии 2021;83(1):12–17. <https://doi.org/10.17116/patol2021830112>.
- Kuznetsova OA, Zavalishina LE, Andreeva YuYu et al. Immunohistochemical study of MSI markers in breast cancer. *Archive of Pathology*.2021;83(1):12–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2021830112>.
15. Vassilakis DA, Sourvinos G, Markatos M et al. Microsatellite DNA instability and loss of heterozygosity in pulmonary sarcoidosis. *Amer J Respir Crit Care Med* 1999;160(5):1729–1733. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.5.9903146>.
- 16.Demopoulos K, Arvanitis DA, Vassilakis DA et al. Genomic instability on hMSH2, hMLH1, CD48 and IRF4 loci in pulmonary sarcoidosis. *Int J Biol Markers* 2002;17(4):224–230. <https://doi.org/10.1177/172460080201700402>.
- 17.Spandidos D, Xinarianos G, Ergazaki M et al. The presence of herpesviruses in pterygium. *Int J Oncol* 1994;5(4):749–752. <https://doi.org/10.3892/ijo.5.4.749>.
- 18.Naganuma A, Dansako H, Nakamura T et al. Promotion of microsatellite instability by hepatitis C virus core protein in human non-neoplastic hepatocyte cells. *Cancer Res* 2004; 64(4):1307–1314. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-2992>.
- 19.Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград, 1961; 114–131.
- Merkulov GA. Course of pathoanatomic technique. Leningrad, 1961; 114–131. (In Russ.).
- 20.Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Хелашвили И.Г., Воропаева Е.Е., Хронический эндометрит и рецептивность эндометрия. Челябинск, 2015; 66–68.
- Kazachkova EA, Kazachkov EL, Khelashvili IG, Voropaeva EE. Chronic endometritis and endometrial receptivity. Chelyabinsk, 2015; 66–68. (In Russ.).
- 21.Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Клещев М.А. с соавт. Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования. Журнал акушерства и женских болезней 2015;LXIV(4):69–77.
- Tolibova GH, Tral TG, Kleshchev MA et al. Endometrial dysfunction: an algorithm for histological and immunohistochemical research. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2015;LXIV(4):69–77. (In Russ.).
- 22.Серебренникова К.Г., Арутюнян Н.А., Алехин А.И. Диагностика и клинические критерии хронического эндометрита. Гинекология 2018;20(6):53–59. <https://doi.org/10.26442/20795696.2018.6.180070>.
- Serebrennikova KG, Arutyunyan NA, Alyokhin AI. Diagnosis and clinical criteria of chronic endometritis. *Gynecology* 2018;20(6):53–59. <https://doi.org/10.26442/20795696.2018.6.180070>.
- 23.Радзинский В.Е., Петров Ю.А., Полина М.Л. Хронический эндометрит: современные аспекты. Кубанский научный медицинский вестник 2017;5:69–74. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74>.
- Radzinsky VE, Petrov YuA, Polina ML. Chronic endometritis: modern aspects. *Kuban Scientific Medical Bulletin* 2017;5:69-74. (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74>.
- 24.Rizzo AE, Gordon JC, Berard AR et al. The female reproductive tract microbiome - implications for gynecologic cancers and personalized medicine. *J Pers Med* 2021;11(6):546. <https://doi.org/10.3390/jpm11060546>.

Сведения об авторах:

Е.Л. Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
 А.В. Затворницкая – кандидат медицинских наук;
 Э.А. Казачкова – доктор медицинских наук, профессор;
 Е.Е. Воропаева – доктор медицинских наук, доцент.

Information about authors:

E.L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 A.V. Zatvornitskaya – Ph.D. in medicine;
 E.A. Kazachkova – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 E.E. Voropaeva – Doctor of Science (Medicine), Associate Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University.

Информированное согласие было подписано всеми пациентами.

Informed consent was signed by all patients.

Статья поступила в редакцию 24.01.2023; одобрена после рецензирования 17.02.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 24.01.2023; approved after reviewing 17.02.2023; accepted for publication 01.04.2023.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ И РЕЖИМОВ ЛАЗЕРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИМАТОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

Е.Л. Казачков¹, О.В. Сафронов², Э.А. Казачкова³, Е.Н. Игнатьева⁴, И.В. Сафронова⁵, Л.Б. Тарасова⁶

^{1, 2, 3, 5, 6} Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

⁴ Многопрофильный центр лазерной медицины, Челябинск, Россия

¹ doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

² docsafronov@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6843-0937>

³ kazachkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>

⁴ elen_ignatieva22@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3625-9300>

⁵ safronova94@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3604-9319>

⁶ tarasovalb12@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4360-4619>

Аннотация

Введение. Сведения об экспериментально обоснованных параметрах и режимах излучения диодного лазера, позволяющих малотравматично проводить хирургическое лечение внутриматочной патологии, в литературе не обнаружено. **Цель исследования** – экспериментально обосновать оптимальные параметры и режимы излучения диодного лазера при лечении внутриматочной патологии на основании изучения морфологических изменений эндометрия. **Материалы и методы.** 48 образцов эндометрия подвергли воздействию диодного лазера мощностью 10-40 Вт в постоянном режиме, а 15 образцов – в импульсном режиме при 3 различных наборах параметров лазерного воздействия. Статистическую обработку данных проводили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel версия 16.49. Различия рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$. **Результаты.** Рассчитаны ширина зоны абляции, боковой коагуляции и гипертермического воздействия при наиболее оптимальных параметрах лазерной энергии (20 Вт), достигающих адекватных режущих и кровоостанавливающих свойств лазера. Наиболее эффективными при импульсном режиме работы лазера явилась амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт. **Обсуждение.** Сравнительный анализ морфометрических показателей при действии лазерного излучения в постоянном режиме с мощностью излучения 20 Вт и импульсном режиме со средней мощностью лазера 20 Вт показал, что структурные параметры имеют достоверно значимо меньшие значения при импульсном режиме работы лазера. **Заключение.** Оптимальные режущие свойства лазера наблюдаются при использовании постоянного лазерного излучения мощностью 20 Вт. Лучшие режущие и кровоостанавливающие свойства продемонстрировал импульсный режим работы лазера со средней мощностью 20 Вт, амплитудная мощность 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, интервала между импульсами – 50 мс.

Ключевые слова: внутриматочная патология, параметры и режимы лазерного воздействия, морфология эндометрия

Для цитирования: Казачков Е.Л., Сафронов О.В., Казачкова Э.А. с соавт. Морфологическое обоснование параметров и режимов лазерного воздействия для хирургического лечения внутриматочной патологии. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):24-33. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-24-33>.

© Казачков Е.Л., Сафронов О.В., Казачкова Э.А., Игнатьева Е.Н., Сафронова И.В., Тарасова Л.Б., 2023

© Kazachkov E.L., Safronov O.V., Kazachkova E.A., Ignatieva E.N., Safronova I.V., Tarasova L.B., 2023

MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF LASER EXPOSURE PARAMETERS AND MODES FOR SURGICAL TREATMENT OF INTRAUTERINE PATHOLOGYE.L. Kazachkov¹, O.V. Safronov², E.A. Kazachkova³, E.N. Ignatieva⁴, I.V. Safronova⁵, L.B. Tarasova⁶^{1, 2, 3, 5, 6} South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia⁴ Multidisciplinary Center of Laser Medicine, Chelyabinsk, Russia¹ doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>² docsafronov@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6843-0937>³ kazachkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>⁴ elen_ignatieva22@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3625-9300>⁵ safronova94@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3604-9319>⁶ tarasovalb12@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4360-4619>**Abstract**

Introduction No data on experimentally substantiated parameters and modes of diode laser radiation allowing a minimally traumatic surgical treatment of intrauterine pathology have been found in the literature. **The aim** of the investigation was to substantiate experimentally the optimum parameters and modes of diode laser radiation in the treatment of intrauterine pathology based on the study of morphological changes in the endometrium. **Materials and methods** 48 endometrial samples were exposed to 10-40 W diode laser power in a constant mode and 15 samples - in a pulsed mode with 3 different sets of laser exposure parameters. The data were statistically processed using Microsoft Excel spreadsheets, version 16.49. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. **Results** Width of the ablation zone, lateral coagulation and hyperthermic exposure zone was calculated at the most optimal parameters of laser energy (20 W), achieving adequate cutting and bleeding properties of the laser. The most effective in the pulsed mode of laser operation was 30 W amplitude power of radiation, the pulse duration of 100 ms, the duration of the interval between pulses of 50 ms, the average power of 20 W. **Discussion** Comparative analysis of morphometric parameters in the action of laser radiation in the constant mode with a radiation power of 20 W and in the pulsed mode with an average laser power of 20 W has shown that the structural parameters have significantly lower values in the pulsed laser mode. **Conclusion** Optimal cutting properties of the laser are observed when constant laser irradiation with a power of 20 W is used. The best cutting and bleeding properties were demonstrated by the pulsed laser mode with an average power of 20 W, amplitude power of 30 W, pulse duration of 100 ms, and inter-pulse interval of 50 ms.

Key words: intrauterine pathology, laser exposure parameters and modes, endometrial morphology.

For citation:

Kazachkov EL, Safronov OV, Kazachkova EA et al. Morphological substantiation of laser exposure parameters and modes for surgical treatment of intrauterine pathology. Ural medical journal 2023;22(2):24-33. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-24-33>

ВВЕДЕНИЕ

Лечение внутриматочной патологии является важной проблемой современной гинекологии в связи с тем, что она встречается у женщин всех возрастных групп и является причиной репродуктивных нарушений, аномальных маточных кровотечений, хронической тазовой боли [1–3].

Традиционно для лечения внутриматочной патологии применяется механическая, термическая, моно- и биполярная электроэнергия [4]. Лазерная энергия начала использоваться в оперативной гинекологии с середины 70-х годов 20 века. Однако применение лазеров было ограничено высокой стоимостью оборудования. Появление недорогих и компактных полупроводниковых или диодных лазеров расширило возможности использования лазерной

энергии в различных отраслях медицины [5–7]. Активно внедряется этот тип лазеров и в практику лечения внутриматочной патологии [8; 9].

Использование оптимальных режимов лазерного излучения позволяет проводить операции с высокой точностью и минимальным повреждением тканей. Подбор режимов работы лазера имеет большое значение, так как под влиянием лазерной энергии в тканях формируется ряд сложных процессов, которые зависят от характеристик лазерного излучения, времени воздействия и свойств биологических тканей. Особенности этих процессов должны быть изучены перед клиническим использованием лазера в процессе экспериментальных исследований [10; 11].

Излучение диодного лазера с длиной волны

970 нм хорошо поглощается водой и оксигемоглобином. При абсорбции лазерного излучения этими специфическими поглотителями ткани нагреваются до температур, превышающих 100° , высушиваются, обугливаются и полностью удаляются. В результате фотовапоризации ткани образуется зона аблации (кратер), или разрез; вокруг кратера расположена зона коагуляции, отражающая гемостатические свойства лазера – участок ткани, в которой под воздействием лазерной энергии происходит нагрев до 60° и денатурация белка; между зоной коагуляции и здоровой тканью расположено несколько рядов клеток с незначительными структурными изменениями, имеющими обратимый характер – зона гипертермического воздействия. Энергия диодного лазера с длиной волны 970 нм проникает в биоткани на глубину 1–2 мм, что определяет хорошие режущие и кровоостанавливающие свойства лазера и делает его применение оптимальным при большинстве хирургических манипуляций [12].

При выполнении хирургических операций с использованием режущих свойств лазера руководствуются выбором оптимальных параметров и режима лазерного излучения, которые гарантируют быструю деструкцию тканей, хороший коагуляционный эффект и минимальное термическое повреждение. Применение лазерного излучения в импульсном режиме уменьшает эффекты теплопередачи за счет наличия периодов остывания ткани. Данный режим излучения позволяет получить более предсказуемые результаты за счет формирования меньшей зоны термического воздействия и может быть использован при проведении операций, требующих минимального повреждения тканей и уменьшения частоты послеоперационных воспалительных изменений [13].

В современной литературе представлена информация о лечении внутриматочной патологии с помощью энергии диодного лазера в постоянном режиме при мощности излучения 15–20 Вт [8; 9]. При этом сведения о влиянии энергии диодного лазера на ткани эндометрия и миометрия женщины, экспериментально обоснованных параметрах и режимах излучения диодного лазера, позволяющих менее травматично и безопасно для пациентки проводить хирургическое лечение внутриматочной патологии, в доступной литературе мы не обнаружили.

Цель исследования – экспериментально обосновать оптимальные параметры и режимы излучения диодного лазера при лечении внутриматочной патологии на основании изучения морфологических изменений эндометрия и миометрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное экспериментальное сравнительное исследование, которое предусматривало гистологическую оценку структурных из-

менений эндометрия и подлежащего миометрия, сформировавшихся под воздействием различных параметров и режимов излучения диодного лазера. Исследование проводили на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии и кафедры патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в сотрудничестве с отделом фундаментальных исследований Челябинского государственного института лазерной хирургии.

Биологической тканью для исследования послужил нефиксированный материал: матки, удаленные в процессе тотальной и субтотальной гистерэктомии. После проведения гистерэктомии маточную полость вскрывали путем разреза передней стенки органа. Проводили визуальную оценку формы полости матки и состояния её слизистой оболочки. После осмотра полости матки осуществляли забор образца условно неизменного эндометрия с подлежащим миометрием объемом 1 см^3 , который в последующем подвергали лазерному воздействию.

Критерии включения: матки пациенток репродуктивного возраста, полученные в результате гистерэктомии по поводу миомы, промежутки времени от момента деваскуляризации матки до воздействия лазерной энергией менее 10 минут, информированное согласие пациентки на участие в эксперименте.

Критерии невключения: наличие гиперплазии эндометрия с атипией, цервикальной интраэпителиальной неоплазии, злокачественных новообразований, послеродовых и послеабортных осложнений, отсутствие информированного согласия пациенток на участие в эксперименте.

В качестве источника лазерного излучения использовали диодный лазер с длиной волны излучения 970 нм. Энергию лазера к тканям подводили с помощью кварцевого моноволоконного световода с полимерной защитной оболочкой. Выходную мощность на конце световода контролировали с помощью измерителя мощности лазерного излучения Gentec TPM-300-CE. Для резания тканей использовали контактный способ рассечения, который формирует меньшие повреждения на периферии зоны резекции. Использовали метод «загрязненного» волокна, который обеспечивает более высокую температуру на торце световода, препятствует генерации лазерной энергии в ткань и обеспечивает формирование тонкого разреза с минимальным повреждением тканей [14]. Для формирования «загрязненного» волокна перед рассечением тканей на торце световода формировали карбонизированный слой путем короткого контактного лазерного воздействия на ткань, подлежащей рассечению [15]. Для максимального приближения эксперимента к клиническим усло-

виям использования диодного лазера разрезы на ткани проводили в жидкостной среде – 0,9% раствор хлорида натрия, который используется для расширения полости матки при гистероскопическом лечении внутриматочной патологии. Скорость проведения разреза тканей – 2 мм в секунду.

1-ю группу составили 48 образцов тканей эндометрия с подлежащим миометрием, подвергавшихся воздействию энергией диодного лазера в постоянном режиме (6 серий опытов). На каждый объект исследования воздействовали энергией диодного лазера мощностью 10, 15, 17, 20, 25, 30, 35, 40 Вт.

2-ю группу сформировали 15 образцов тканей эндометрия с подлежащим миометрием после воздействия энергией в импульсном режиме диодного лазера. При этом изучены 3 варианта параметров лазерного воздействия: 1) амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 50 мс, продолжительность интервала между импульсами 40 мс, средняя мощность излучения 16,7 Вт; 2) амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 70 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность излучения 17,5 Вт; 3) амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт.

Расчет средней мощности излучения проводили с помощью формулы [16]:

где $P_{\text{ср}}$ – средняя мощность лазерного излучения в Вт, $P_{\text{амп.}}$ – амплитудная мощность излучения в Вт,

$$P_{\text{ср.}} = \frac{P_{\text{амп.}} (\text{Вт}) \times t_{\text{имп.}} (\text{мс})}{t_{\text{имп.}} (\text{мс}) + t_{\text{пауза}} (\text{мс})}$$

Вт, $t_{\text{имп.}}$ – продолжительность импульса в мс, $t_{\text{пауза}}$ – продолжительность интервала между импульсами в мс.

Каждый образец эндометрия и подлежащего миометрия объемом 1 см³, подвергавшийся воздействию лазерной энергии, отбирали для дальнейшего гистологического и морфометрического исследования с целью изучения изменений, сформировавшихся в тканях под влиянием постоянного и импульсного режима лазерного излучения различной мощности. Оценивали ширину зоны абляции, зоны коагуляции и зоны гипертермического воздействия. При этом патологоанатом не был осведомлен о режиме лазерного воздействия на конкретный образец.

После процедуры лазерного воздействия на нативную ткань гистологические препараты готовили по стандартным методикам [17]. Образцы эндометрия и подлежащего миометрия объемом 1 см³ помещали в 10% забуференный раствор нейтрального формалина на 24 часа, затем обезжировали, обезжирили и парафинизировали в гистологическом автомате по общепринятой ме-

тодике. Изготавливали срезы, перпендикулярные линии лазерного разреза и поверхности слизистой оболочки матки, толщиной 5 мкм. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое исследование образцов выполняли путём световой микроскопии при увеличении от х40 до х400. Ширину зон абляции, коагуляции и гипертермического воздействия измеряли с помощью окуляр-микрометра при увеличении микроскопа х20 и объект-микрометра с одной деления предметного стекла 10 мкм.

Статистическую обработку данных проводили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel версия 16.49. Для номинальных данных рассчитывали частоту и относительную частоту (%). При сравнении групп использовали критерий χ^2 Пирсона и критерий Фишера. Признаки, распределение которых отличались от нормального, представили в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q2), количественные признаки с нормальным распределением – средним значением (M) и стандартным отклонением (m). Различия рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе морфологических изменений в тканевом фрагменте эндометрия (миометрия) после лазерного воздействия в постоянном режиме установлено, что очаг лазерного воздействия имел неправильную форму, приближающуюся к треугольной, с основанием, обращённым к поверхности эндометрия, и вершиной, направленной в сторону миометрия. Зачастую зона абляции (кратера) распространялась на всю толщу эндометрия, иногда с частичным вовлечением в процесс деструкции поверхностных отделов подлежащего миометрия (рисунок). Местами в зоне кратера свободно лежали скудные продукты абляции в виде скоплений артефициально трансформированных клеток и элементов их распада.

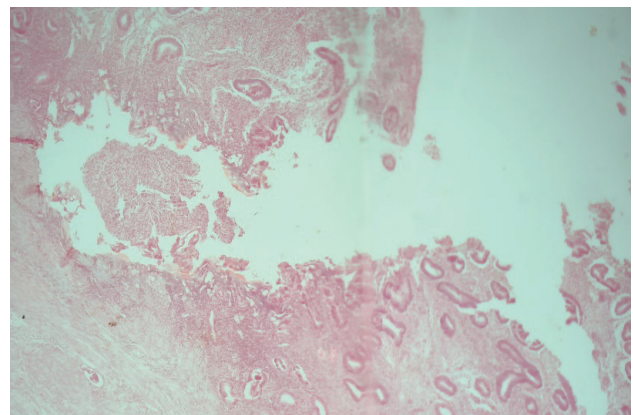


Рис. 1. Зона абляции (кратера) на месте воздействия лазерной энергии, имеющая треугольную форму и распространяющаяся на всю толщу эндометрия. Окраска гематоксилином и эозином, х100.

На поверхности зоны кратера мозаично распо-

лагались продукты тканевого детрита в виде тонкослойных помарок бесструктурных аморфных эозинофильных масс, интенсивно адсорбирующих кислые красители. Далее в глубине располагались продукты распада клеточных мембран и ядер, элементы денатурированных волокнистых структур с фрагментами обрывков скрученных эластических волокон (зона боковой коагуляции). Здесь же регистрировались фрагменты единичных мелких сосудов с пристеночно расположенными единичными форменными элементами красной и белой крови, находящимися зачастую в состоянии гемолиза. Клетки сосудистой адвентиции немногочисленные, с пикнотичными ядрами, расположенными перпендикулярно к сосудистой стенке.

Далее к периферии от зоны коагуляции (в зоне гипертермического воздействия) располагался эндометрий с незначительными структурными перестройками слизистой оболочки матки. Большинство эндометриальных желёз имели округло-овальную форму, в их просветах определялся вакуолизированный бледно-эозинофильный материал с единичными слущенными клетками эпителиальной выстилки, но чаще просветы желёз были пусты. В цитоплазме большинства glanduloцитов желёз наблюдалась нежная и мелко-гранулирован-

ная эозинофильная зернистость либо немногочисленные оптически пустые мелкие вакуоли.

Проведенное морфологическое исследование биоптатов эндометрия с подлежащим миометрием 1-й группы показало, что использование диодного лазера с длиной волны 970 нм обуславливает проникновение энергии в биоткани на глубину 0,5-2 мм. При этом наиболее оптимальным параметром лазерной энергии для осуществления адекватных режущих и кровоостанавливающих свойств явилась мощность 20 Вт. Использование воздействий меньшей мощности (10-17 Вт) не позволяло достичь должного режущего эффекта ткани, в то время как более высокие мощностные характеристики (25-40 Вт) приводили к чрезмерному повреждению эндометрия (миометрия), окружающей зону абляции (кратера), и значительному расширению зоны коагуляции.

Результаты морфометрического исследования характера зависимости ширины центрального дефекта ткани (кратера), зоны бокового коагуляционного некроза от мощности воздействия диодного лазера с длиной волны 970 нм при нанесении линейных разрезов в постоянном режиме со скоростью проведения разреза 2 мм в секунду, отражены в табл. 1.

Таблица 1.

Зависимость ширины зоны абляции (кратера), зоны коагуляции и зоны гипертермического воздействия от мощности диодного лазера с длиной волны 970 нм при линейных разрезах эндометрия (миометрия) в постоянном режиме

Мощность, Вт	Показатель (n=48)								
	Ширина зоны абляции, мкм			Ширина зоны коагуляции, мкм			Ширина зоны гипертермического воздействия, мкм		
	Q ₁	Me	Q ₂	Q ₁	Me	Q ₂	Q ₁	Me	Q ₂
10	608,72	627,41	646,08	1314,01	1432,82	1551,59	675,75	714,22	752,65
15	629,54	648,83	668,06	1370,40	1493,57	1616,60	712,70	753,43	794,10
17	671,19	691,52	711,81	1384,79	1509,31	1633,81	760,50	804,62	848,70
20	718,46	740,57	762,54	1586,81	1728,80	1870,79	810,33	856,79	903,07
25	771,95	795,33	819,05	1729,71	1885,40	2041,10	832,76	880,83	928,84
30	787,32	811,41	835,48	1840,95	2005,64	2170,25	872,13	921,54	970,87
35	879,09	905,61	932,11	2055,87	2240,73	2425,33	967,33	1023,50	1079,67
40	954,29	983,45	1012,51	2312,19	2518,95	2725,61	1551,13	1640,36	1729,47

При наиболее оптимальных параметрах лазерной энергии (средняя мощность излучения 20Вт), позволяющих достичь адекватных режущих и кровоостанавливающих свойств лазера, ширина зоны абляции (кратера) составила 740,57 (718,46; 762,81) мкм, ширина зоны боковой коагуляции – 1728,80 (1586,81; 1870,79) мкм, а ширина зоны гипертермического воздействия в среднем не превышала 856,79 (810,33; 903,07) мкм (табл. 1). Далее к периферии от зоны гипертермического воздействия тканевые структуры практически не отличались от нормального строения эндометрия и миометрия.

2-ю группу сформировали 15 образцов тканей эндометрия с подлежащим миометрием после воздействия энергией диодного лазера в импульсном режиме. Изучены 3 варианта параметров действия лазера: 1) режим № 1: амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 50 мс, продолжительность интервала между импульсами 40 мс, средняя мощность излучения 16,7 Вт; 2) режим № 2: амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 70 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность излучения 17,5 Вт; 3) режим № 3: амплитудная мощность излучения 30 Вт, продол-

жительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между им-пульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт. Результаты количественного изучения зависимости ширины зоны абляции (кратера), зоны коагуляции и зоны гипертермического воздействия энергии диодного лазера с длиной волны 970 нм в импульсном режиме от параметров лазерного воздействия представлены в таблице 2.

Как следует из данных таблицы 2, наиболее эффективными для проявления оптимальных режущих и кровоостанавливающих свойств лазера при импульсном режиме его работы явились следующие параметры лазерной энергии: амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжи-

тельность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт (режим № 3). При этом ширина зоны абляции (кратера) составила 702,87 (682,16; 723,44) мкм, ширина зоны боковой коагуляции – 1520,25 (1395,11; 1645,89) мкм, а ширина зоны гипертермического воздействия в среднем не превышала 793,12 (750,08; 836,12) мкм. При использовании лазерных параметров в режиме № 1 и режиме № 2 (со средней мощностью лазерного излучения 16,7 Вт и 17,5 Вт соответственно) показатели ширины зон абляции (кратера), боковой коагуляции и гипертермического воздействия оказались недостаточными для осуществления адекватных режущих и кровоостанавливающих свойств лазера.

Таблица 2.

Зависимость ширины зоны абляции (кратера), зоны коагуляции и зоны гипертермического воздействия энергии диодного лазера с длиной волны 970 нм в импульсном режиме от различных параметров лазерного воздействия

Параметры лазерного воздействия	Показатель (n=15)								
	Ширина зоны абляции, мкм			Ширина зоны коагуляции, мкм			Ширина зоны гипертермического воздействия, мкм		
	Q ₁	Me	Q ₂	Q ₁	Me	Q ₂	Q ₁	Me	Q ₂
1**	613,07	631,70	650,33	1296,45	1412,45	1528,35	662,41	700,71	738,99
2***	677,45	698,23	719,15	1375,15	1499,63	1624,05	742,42	784,93	827,39
3****	682,16	702,87	723,44	1395,11	1520,25	1645,89	750,08	793,12	836,12

1** – амплитудная мощность излучения 30 Вт; продолжительность импульса 50 мс, продолжительность интервала между импульсами 40 мс, средняя мощность излучения 16,7 Вт (режим № 1);

2*** – амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 70 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность излучения 17,5 Вт (режим № 2);

3**** – амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт (режим № 3).

Сравнительный анализ показателей ширины зоны абляции (кратера), зоны боковой коагуляции и зоны гипертермического воздействия при действии лазерного излучения в постоянном режиме с мощностью излучения 20 Вт и импульсном режиме со средней мощностью лазера 20 Вт

представлен в таблице 3. Изучаемые показатели имеют достоверно значимо меньшие значения при импульсном режиме работы лазера, соответствуя при этом оптимальным режущим и кровоостанавливающим свойствам лазерного излучения.

Таблица 3.

Сравнительные показатели ширины зоны абляции (кратера), зоны коагуляции и зоны гипертермического воздействия энергии диодного лазера с длиной волны 970 нм в постоянном и импульсном режиме

Параметры лазерного воздействия	Показатель		
	Ширина зоны абляции, мкм	Ширина зоны коагуляции, мкм	Ширина зоны гипертермического воздействия, мкм
	Me±m	Me±m	Me±m
Постоянный режим, мощность 20 Вт	740,5±22,04	1728,8±141,99	856,7±46,37
Импульсный режим, средняя мощность 20 Вт	702,8±20,64	1520,5±125,39	793,1±43,02
p	0,014	0,031	0,049

ОБСУЖДЕНИЕ

Хирургические вмешательства, выполняемые на внутриматочном сегменте женского репродуктивного тракта, связаны с необходимостью воздействий на ткани с различными оптическими свойствами (эндометрий, миометрий, сосудистые

формирования, ткани субмукозных миом, эндометриальных полипов), зачастую в ходе одного оперативного пособия. При хирургическом лечении внутриматочной патологии с помощью диодного лазера, равно как и в ЛОР-практике [18], спектр оперативных воздействий охватывает как ткани

с обильным кровоснабжением, где максимально должны быть реализованы гемостатические свойства лазера, так и области, требующие максимально щадящего и деликатного подхода, а избыточное термическое повреждение может привести к рубцеванию и персистирующему воспалительному процессу. Поэтому мы разделяем мнение С.А. Карпищенко и соавт. [19] о том, что клиническому применению лазеров обязательно должна предшествовать апробация излучения в различных режимах и разными параметрами воздействия на биологических объектах с целью выбора оптимальных параметров и визуальной оценки возможных термических повреждений тканей.

Использование оптимальных режимов лазерного излучения позволяет проводить операции с высокой точностью и минимальным повреждением тканей [20; 21]. Подбор режимов работы лазера имеет важное значение, поскольку под влияние лазерной энергии в биотканях формируется ряд сложных процессов, которые зависят от характера лазерного излучения, времени воздействия и свойств тканевой архитектоники, причём особенности этих процессов должны быть изучены перед клиническим использованием лазера в процессе экспериментальных исследований [22; 23].

На материале 48 образцов тканей эндометрия с подлежащим миометрием, которые подверглись воздействию энергией диодного лазера в постоянном режиме с мощностью лазерного излучения 10, 15, 17, 20, 25, 30, 35, 40 Вт, нами установлено, что наиболее оптимальным параметром лазерной энергии является средняя мощность излучения 20 Вт. Такой режим работы позволил достичь адекватные режущие и кровоостанавливающие свойства лазера.

По мнению А. Vogel, V. Venugopalan [24], большая длительность воздействия лазера при постоянном режиме приводит к проявлению процессов теплопередачи в тканях и их избыточному неконтролируемому разогреву, как в стороны, так и в глубину. Формирование выраженного коагулята вследствие явлений теплопередачи удлиняет процесс заживления лазерной раны и может обусловить избыточное рубцевание. Импульсные режимы уменьшают эффекты теплопередачи за счет наличия периодов «остывания» ткани и дают более предсказуемые результаты [25].

Поскольку лазерное излучение в импульсном режиме обеспечивает формирование меньшей зоны коагуляции по сравнению с постоянным режимом излучения [18; 26], его использование оправдано при вмешательствах, требующих минимального повреждения окружающих тканей и уменьшения выраженности послеоперационных

воспалительных изменений. Ограничение времени лазерного воздействия уменьшает разогревание окружающих тканей, поглощение энергии излучения (превращение электромагнитной энергии в энергию вибраций и колебания молекул), занимает значительно меньше времени, чем процесс теплопроводения в соседние ткани. Длительность импульсов должна быть немного меньше, чем время, необходимое для температурной релаксации, а интервал между ними — достаточным для охлаждения в области воздействия.

По нашим данным, наиболее эффективными для проявления оптимальных режущих и кровоостанавливающих свойств лазера при импульсном режиме его работы явилась амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс, средняя мощность 20 Вт. При этом сравнительный анализ показателей ширины зоны абляции (кратера), зоны боковой коагуляции и зоны гипертермического воздействия при действии лазерного излучения в постоянном режиме с мощностью излучения 20 Вт и импульсном режиме со средней мощностью лазера 20 Вт показал, что изучаемые морфологические перестройки имеют достоверно значимо меньшие значения при импульсном режиме работы лазера. По мнению Е.Н. Игнатъевой и соавт. [27], при микроскопическом исследовании ширина каналов, созданных с помощью лазерного излучения в импульсном режиме, также была статистически значимо меньше, чем при применении непрерывного режима за счёт меньшей зоны первичного термического повреждения тканей. Таким образом, подбором оптимальных параметров частоты импульсов и их мощности можно добиться образования кратера с хорошо очерченным краем, глубина которого определяться оптимальной длиной волны излучения и соответствует оптической глубине проникновения луча, а ширина стремится к показателю диаметра оптоволокну при контактном воздействии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведения первого этапа эксперимента было установлено, что оптимальные режущие свойства лазера наблюдаются при использовании постоянного лазерного излучения мощностью 20 Вт. В результате выполнения второго этапа исследования было установлено, что лучшие режущие свойства продемонстрировал импульсный режим, средняя мощность которого составила 20 Вт (амплитудная мощность излучения 30 Вт, продолжительность импульса 100 мс, продолжительность интервала между импульсами 50 мс).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Rikken JF, Kowalik CR, Emanuel MH et al. Septum resection for women of reproductive age with a septate uterus. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;1(1):CD008576. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008576.pub4>.
2. Чернуха Г.Е., Иванов И.А., Эфендиева З.Н. с соавт. Этиологическая структура и возможности диагностики аномального маточного кровотечения. *Гинекология* 2018;20(2):14–17. https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.2.14-18.
- Chernukha G.E., Ivanov I.A., Efendieva Z.N., Dumanovskaya M.R., Asaturova A.V. Etiological structure and diagnostic of abnormal uterine bleeding. *Gynecology* 2018;20(2):14–17. (In Russ.) https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.2.14-18.
3. Pereira N., Petrini F.C., Jovana P.L., Rony T.E., Steven D.S. Surgical management of endometrial polyps in infertile women: a comprehensive review. *Surg Res Pract* 2015;2015:914390. <https://doi.org/10.1155/2015/914390>.
4. Ключаров И.В., Макаренко Т.А., Галкина Д.Е. с соавт. Осложнения диагностической и оперативной гистероскопии: профилактика, диагностика, лечение. *Российский вестник акушера-гинеколога* 2022;22(1):58–65. <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201158>.
- Klyucharov IV, Makarenko TA, Galkina DE et al. Complications of diagnostic and operative hysteroscopy: prevention, diagnosis, treatment. *Russian Bulletin of the Obstetrician-Gynecologist*. 2022;22(1):58–65. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201158>.
5. Чудновский Н.М., Юсупов В.И., Захаркина О.Л. с соавт. Вклад лазероиндуцированной газопарообразной динамики в механизм эндовенозной лазерной облитерации. *Современные технологии в медицине* 2016;8(2):6–13. <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.2.01>.
- Chudnovskii VM, Yusupov VI, Zakharkina OL et al. Contribution of laser-induced gas-vapor-liquid dynamics to the mechanism of endovenous laser ablation. *Sovremennye tehnologii v medicine = Modern technologies in medicine* 2016;8(2):6–13. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17691/stm2016.8.2.01>.
6. Крикун Е.В., Блашкова С.Л. Диодный лазер в стоматологической практике. *Казанский медицинский журнал* 2017;98(6):1023–1028. <https://doi.org/10.17750.KMJ2017-1023>.
- Krikun EV, Blashkova SL. Diode laser in dental practice. *Kazan Medical Journal* 2017;98(6):1023–1028. (In Russ.). <https://doi.org/10.17750.KMJ2017-1023>.
7. Хотим О.А., Аносов В.С., Сычевский Л.З. Сравнительный анализ результатов оперативного лечения костных кист у детей. *Вестник ВГМУ* 2021;20(1):55–61. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2021.1.56>.
- Hotim OA, Anosov VS, Sychevsky LZ. Comparative analysis of the results of surgical treatment of bone cysts in children. *Vestnik VGMU = Bulletin of the VSMU* 2021;20(1):55–61. (In Russ.). <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2021.1.56>.
8. Haimovich S, Lopez-Yarto M, Urresta Avila J et al. Office hysteroscopic laser enucleation of submucous myomas without mass extraction: a case series study. *Biomed Res Int* 2015;2015:255–261. <https://doi.org/10.1155/2015/905204>.
9. Nappi L, Pontis A, Sorrentino F et al. Hysteroscopic metroplasty for the septate uterus with diode laser: a pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016;206:32–35. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.08.035>.
10. Хотим О.А., Аносов В.С., Сычевский Л.З. Использование лазера в медицине, возможности применения лазерного излучения в травматологии и ортопедии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета* 2018;16(6):654–660. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2018-16-6-654-660>.
- Hotim OA, Anosov VS, Sychevsky LZ. The use of laser in medicine, the possibility of using laser radiation in traumatology and orthopedics. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2018;16(6):654–660. (In Russ.). <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2018-16-6-654-660>.
11. Карпищенко С.А., Рябова М.А., Шумилова Н.А. Технические аспекты лазерной полипотомии. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae* 2021;27(1):4–11. <https://doi.org/10.33848/foliorl23103825-2021-27-1-4-11>.
- Karpishchenko SA, Ryabova MA, Shumilova NA. Technical aspects of laser polypotomy. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae* 2021;27(1):4–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.33848/foliorl23103825-2021-27-1-4-11>.
12. Минаев В.П. Лазерные аппараты для хирургии и силовой терапии на основе мощных полупроводниковых и волоконных лазеров. *Квантовая электроника* 2005;35(11):976–983. <https://doi.org/10.1070/QE2005v035n11ABEH006616>.
- Minaev VP. Laser devices for surgery and energy therapy based on high-power semiconductor and fiber lasers. *Quantum electronics* 2005;35(11):976–983. (In Russ.) <https://doi.org/10.1070/QE2005v035n11ABEH006616>.
13. Привалов В.А., Крочек И.В., Абушкин И.А. с соавт. Лазерная остеоперфорация в лечении воспалительных и деструктивных заболеваний костей. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2009;2(1):19–28.
- Privalov VA, Krochek IV, Abushkin IA et al. Laser osteoporosis in the treatment of inflammatory and destructive bone diseases. *Vestnik eksperimental'noj i klinicheskoy hirurgii = Bulletin of Experimental and Clinical Surgery* 2009;2(1):19–28. (In Russ.).
14. Рябова М.А., Улупов М.Ю., Шумилова Н.А. с соавт. Сравнение режущих и коагуляционных свойств волоконных лазеров с длиной волны 1,56 и 1,94 мкм с полупроводниковым лазером 0,98 мкм. *Бюллетень сибирской медицины* 2021;20(4):56–62. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-56-62>.
- Ryabova MA, Ulupov MYu, Shumilova NA et al. Comparison of cutting and coagulation properties of 1.56 and 1.94 μm fiber lasers and a 0.98 μm semiconductor laser. *Bulletin of Siberian Medicine* 2021; 20 (4): 56–62. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-56-62>.
15. Ильин Д.А., Майбородин И.В. Формирование рубца в печени. *Морфология* 2003;123(1):80–83.
- Ilyin DA, Mayborodin IV. Scar formation in the liver. *Morphology*. 2003;123(1):80–83. (In Russ.).
16. Федоров В.Н., Фаустов Е.В. Медицинская и биологическая физика: Курс лекций с задачами: учеб. пособие. Мо-

сква: ГЭОТАР-Медиа. 2008; с. 500–517.

Fedorov VN, Faustov EV. Medical and biological physics: A course of lectures with tasks: Tutorial. Moscow: GEOTAR-Media. 2008; pp. 500–517. (In Russ.).

17. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград. 1961; с. 114–131.

Merkulov GA. Course of pathoanatomic technique. Leningrad. 1961; pp. 114–131. (In Russ.).

18. Рябова М.А., Шумилова Н.А. Варианты лазерной хирургической техники при полипотомии носа. Российская ринология 2015;23(2):9–11. <https://doi.org/10.17116/rosrino20152329-11>.

Ryabova MA, Shumilova NA. Variants of laser surgical technique for nasal polypotomy. Russian rhinolog. 2015;23(2):9–11. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/rosrino20152329-11>.

19. Карпищенко С.А., Рябова М.А., Улупов М.Ю. с соавт. Выбор параметров лазерного воздействия в хирургии ЛОР-органов. Вестник оториноларингологии 2016;81(4):1418. <https://doi.org/10.17116/otorino201681414-18>.

Karpishchenko SA, Ryabova MA, Ulupov MYu et al. The choice of laser exposure parameters in ENT surgery. Bulletin of Otorhinolaryngology 2016;81(4):14-18. <https://doi.org/10.17116/otorino201681414-18>.

20. Минкевич К.В. Применение диодного лазера в гинекологии. Главный врач Юга России 2007;9(1):37–38.

Minkevich KV. The use of a diode laser in gynecology. Glavnyy vrach Yuga Rossii = Chief physician of the South of Russia 2007;9(1):37-38. (In Russ.).

21. Фёдорова Т.А., Москвин С.В., Аполихина И.А. Лазерная терапия в акушерстве и гинекологии. Москва : Тверь. 2009; С. 5–7.

Fedorova T.A., Moskvina S.V., Apolikhina I.A. Laser therapy in obstetrics and gynecology. Moscow : Tver. 2009; pp. 5-7. (In Russ.).

22. Тарасенко С.В., Шехтер А.Б., Гришин А.А., Мозокина М.М. Изучение влияния излучения диодного лазера на эндотелий сосудов в эксперименте. Российская стоматология 2012;5(2):50–56.

Tarasenko SV, Shekhter AB, Grishin AA, Mozokina MM. Study of the effect of diode laser radiation on vascular endothelium in an experiment. Russian stomatology 2012;5(2):50–56. (In Russ.).

23. Tunc B, Gulsoy M. Tm: fiber laser ablation with real-time temperature monitoring for minimizing collateral thermal damage: ex vivo dosimetry for ovine brain. Lasers Surg Med 2013;45(1):48–56. <https://doi.org/10.1002/lsm.22114>.

24. Vogel A, Venugopalan V. Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues. Chem Rev 2003;103(2):577–644. <https://doi.org/10.1021/cr010379n>.

25. Соколов В.В., Каприн А.Д., Панкратов А.А. с соавт. Оценка лечебной эффективности высокоинтенсивного импульсно-периодического лазерного излучения (экспериментальные и клинические данные). Исследования и практика в медицине 2016;3(3):83–90. <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-3-9>.

Sokolov VV, Kaprin AD, Pankratov AA et al. Evaluation of the therapeutic efficacy of high-intensity pulsed-periodic laser radiation (clinical and experimental observations). Research and Practical Medicine Journal 2016;3(3):83–90. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2016-3-3-9>.

26. Жижин Н.К., Колбас Ю.Ю., Кузнецов Е.В. Использование лазеров в хирургии. Фотоника 2020;14(3):282–291. <https://doi.org/10.22184/1993-7296.FRos.2020.14.3.282.291>.

Zhizhin NK, Kolbas YuYu, Kuznetsov EV. The use of lasers in surgery. Photonics 2020;14(3):282–291. (In Russ.). <https://doi.org/10.22184/1993-7296.FRos.2020.14.3.282.291>.

27. Астахова Л.В., Игнатьева Е.Н., Головнева Е.С. с соавт. Сравнительное изучение действия непрерывного и импульсного высокоинтенсивного лазерного излучения на кожу (экспериментальное исследование). Лазерная медицина 2015;19(4):53–57. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2015-19-4-53-57>.

Astakhova LV, Ignatieva EN, Golovneva ES et al. Comparative study of the effect of continuous and pulsed high-intensity laser radiation on the skin (experimental study). Laser medicine 2015;19(4):53–57. (In Russ.). <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2015-19-4-53-57>.

Сведения об авторах:

Евгений Леонидович Казачков – доктор медицинских наук, профессор;

Олег Владимирович Сафронов – кандидат медицинских наук, доцент;

Элла Алексеевна Казачкова – доктор медицинских наук, профессор;

Елена Николаевна Игнатьева – кандидат биологических наук;

Ирина Владимировна Сафронова – кандидат технических наук, доцент;

Людмила Бернардовна Тарасова – кандидат медицинских наук, доцент.

Information about authors:

Evgenij L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;

Oleg V. Safronov – Ph.D. in medicine, Associate Professor;

Ella A. Kazachkova – Doctor of Science (Medicine), Professor;

Elena N. Ignatieva – Ph.D. in biology;

Irina V. Safronova – Ph.D. in Technical Sciences, Associate Professor;

Ljudmila B. Tarasova – Ph.D. in medicine, Associate Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interest.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source The authors state that there is no external funding for the study.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 18.05.2019).

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University (No. 4 dated May 18, 2019).

Информированное согласие. Все пациентки были ознакомлены с целью работы и дали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

Informed consent All patients were acquainted with the purpose of the work and gave informed consent to participate in the study and publish the results in the open press.

Статья поступила в редакцию 24.01.2023; одобрена после рецензирования 28.02.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 24.01.2023; approved after reviewing 28.02.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОСТТОКСИЧЕСКОГО ФИБРОЗА И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ И ПРИМЕНЕНИЕ ОКИСЛЕННОГО ДЕКСТРАНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.А. Карпов¹, А.П. Надеев², В.А. Шкурупий³, В.Д. Клочин⁴, Л.Ю. Костина⁵

¹⁻⁴ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

^{1-3,5} Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

¹ karpov-ma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8200-3998>

² nadeevngma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0400-1011>

³ klo4in@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5418-1375>

⁴ sck@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5078-4216>

⁵ klory@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0282-1665>

Аннотация

Введение. Цирроз печени является одной из ведущих проблем современной медицины в России и мире, заболеваемость которым в настоящее время растет, а смертность при циррозе достигает 47% среди заболеваний печени. Цель работы – оценка значения металлопротеиназ (ММП) и их ингибиторов в формировании фиброза и цирроза печени в исходе хронического гепатоза смешанной токсической этиологии и применение окисленного декстрана (ОД) в эксперименте. **Материалы и методы.** У крыс Вистар 1-й группы индуцировали посттоксический хронический гепатоз введением 50% масляного раствора CCl_4 интраперитонеально и 6,5% водного раствора этилового спирта per os в течение 60 суток. Животным 2-й (опытная) группы – на фоне введения токсических факторов с 30-х суток эксперимента, на протяжении последующих 60-и суток интраперитонеально вводили по 2 мл 5% водного раствора окисленного декстрана (Мг 40 кДа). В печени исследовали численную плотность клеток Купфера, экспрессировавших ММП-2, ММП-9, TIMP-1. **Результаты.** С 60-х суток у крыс 1-й группы развивался цирроз печени с формированием ложных долек. При введении ОД количество клеток Купфера, экспрессировавших ММП-2, ММП-9 было до 2-х раз меньшим ($p \leq 0,05$), чем у крыс 1-й группы. Численная плотность клеток Купфера, экспрессировавших TIMP-1, у крыс 2-й группы была в 3 раза большей на 60-е сутки, чем у крыс 1-й группы. У крыс 2-й группы к 90-м суткам наблюдали уменьшение количества клеток Купфера, экспрессирующих ММП-2, ММП-9 в 2 раза, а TIMP-1 – в 3 раза. При хроническом гепатозе у крыс 2-й группы деградация коллагена была нарушена на 60-е сутки, по-видимому, в связи с «блокадой сборки» тропоколлагенов путем альдегид-альдегидной связи с окисленным декстраном. **Обсуждение.** Окисленный декстран при хроническом токсическом гепатозе оказывает антифибротический эффект, препятствующий формированию цирроза печени, обусловленный как процессами деградации коллагена во внеклеточном матриксе под влиянием ММП-2, ММП-9, так и связанный с нарушением процесса сборки коллагена, в связи с «блокадой сборки» тропоколлагенов путем альдегид-альдегидной связи с окисленным декстраном. **Заключение.** Применение ОД при хроническом токсическом гепатозе предотвращает формирование цирроза печени в эксперименте в связи, вероятно, усиленными процессами деградации коллагена во внеклеточном матриксе под влиянием ММП-2, ММП-9. **Ключевые слова:** хронический гепатоз, фиброз и цирроз печени, матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы, клетки Купфера, окисленный декстран.

Для цитирования: Карпов М.А., Надеев А.П., Шкурупий В.А. с соавт. Исследование роли металлопротеиназ и их ингибиторов при формировании посттоксического фиброза и цирроза печени и применение окисленного декстрана в эксперименте. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):34-39. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-34-39>.

STUDY OF THE ROLE OF METALLOPROTEINASES AND THEIR INHIBITORS IN THE FORMATION OF POSTTOXIC FIBROSIS AND CIRRHOSIS AND THE USE OF OXIDIZED DEXTRAN IN THE EXPERIMENT

M.A. Karpov¹, A.P. Nadeev², V.A. Shkurupiy³, V.D. Klochin⁴, L.Yu. Kostina⁵

¹⁻⁴ Research institute of experimental and clinical medicine Federal research center for fundamental and translational medicine, Novosibirsk, Russia

^{1-3,5} Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

¹ karpov-ma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8200-3998>

² nadeevngma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0400-1011>

³ klo4in@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5418-1375>

⁴ sck@centercem.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5078-4216>

⁵ klory@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0282-1665>

Abstract

Introduction Cirrhosis of the liver is one of the leading problems of modern medicine in Russia and the world, the incidence of which tends to increase at the present time, and mortality among liver diseases with cirrhosis reaches 47%. **The purpose of the work** is to evaluate the significance of metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors in the formation of liver fibrosis and cirrhosis in the outcome of chronic hepatosis of mixed toxic etiology and the use of OD in the experiment. **Materials and methods** In Wistar rats of group 1, posttoxic chronic hepatosis was induced by injections of 50% CCl₄ oil solution intraperitoneally and 6.5% aqueous solution of ethyl alcohol per os for 60 days. Animals of the 2nd (experimental) group – against the background of the injections of toxic factors from the 30th day of the experiment, for the next 60 days intraperitoneally injected 2 ml of 5% aqueous solution of oxidized dextran (Mr 40 kDa). The numerical density of Kupfer cells, expressing MMP-2, MMP-9, TIMP-1 was studied in the liver. **Results** From the 60th day, group 1 rats developed cirrhosis of the liver with the formation of false lobules. With the injections of oxidized dextran, the number of Kupfer cells expressing MMP-2, MMP-9 was up to 2 times less than in group 1 rats. The numerical density of Kupfer cells expressing TIMP-1 in group 2 rats was 3 times higher on day 60 than in group 1 rats. In group 2 rats, by the 90th day, a decrease in the number of Kupfer cells expressing MMP-2, MMP-9 by 2 times, and TIMP-1 by 3 times was observed. **Discussion** OD in chronic toxic hepatosis has an antifibrotic effect that prevents the formation of liver cirrhosis, due to both the processes of collagen degradation in the extracellular matrix under the influence of MMP-2, MMP-9, and associated with a violation of the collagen assembly process, apparently due to the “blockade of the assembly” of tropocollagens by aldehyde-aldehyde bond with oxidized dextran. **Conclusion** The use of OD in chronic toxic hepatosis prevents the formation of liver cirrhosis in the experiment due to increased processes of collagen degradation in the extracellular matrix under the influence of MMP-2, MMP-9.

Key words: chronic hepatosis, liver fibrosis and cirrhosis, matrix metalloproteinases and their inhibitors, Kupfer cells, oxidized dextran

For citation:

Karpov MA, Nadeev AP, Shkurupiy VA et al. Study of the role of metalloproteinases and their inhibitors in the formation of posttoxic fibrosis and cirrhosis and the use of oxidized dextran in the experiment. Ural medical journal 2023;22(2):34-39. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-34-39>

ВВЕДЕНИЕ

Цирроз печени является одной из ведущих проблем современной медицины в России и мире. В настоящее время заболеваемость циррозом печени имеет тенденцию к росту, а смертность среди заболеваний печени при циррозе достигает 47%, при этом отмечена неблагоприятная ситуация с ростом заболеваемости циррозом печени алкогольной этиологии [1, 2, 3]. В промышленных странах в этиологии фиброза печени и её цирроза

не редко сочетаются воздействия промышленных токсинов и алкоголя [4, 5].

В основе развития цирроза печени лежат деструктивные (дистрофические и некротические) процессы в паренхиме печени и её фиброзирование, приводящие в конечном итоге к формированию типичного признака цирроза – образованию ложных долек [6, 7].

Известно, что в процессе фиброза печени ведущую роль отводят взаимодействию макрофагов, в том чис-

ле клеткам Купфера, и фибробластов, которые регулируют и обеспечивают процесс синтеза коллагена [8–11]. Регуляция накопления и деградации коллагена обеспечивается различными биологически-активными веществами, в том числе матриксными металлопротеиназами (MMPs) различных типов, их ингибиторами (TIMP), при фиброзе различной этиологии и локализации, их участие замечено в процессах закладки и развития органов, ангиогенезе, апоптозе и многих других процессах [12–14].

Цирроз печени имеет неуклонно прогрессирующее течение, не поддающееся терапевтическому лечению. В этой связи, поиск и разработка противофибротических средств остается актуальной проблемой гепатологии. Ранее было показано уменьшение фиброзирование печени и отсутствие ее цирротической трансформации при воздействии окисленным декстраном (ОД) [15, 16]. Однако механизмы этого эффекта, как при гепатозах и циррозе печени, так и при других экспериментальных условиях остаются недостаточно изученными.

Цель исследования: оценка значения металлопротеиназ и их ингибиторов в формировании фиброза и цирроза печени в исходе хронического гепатоза смешанной токсической этиологии и применении ОД в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали крыс-самцов ($n=30$) Вистар массой тела 280–320 г, разделенные на 2 группы. Выбор для проведения эксперимента крыс-самцов обусловлен необходимостью исключения влияния половых различий при формировании экспериментальной модели цирроза печени. Эксперимент выполнен в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях и приказом «Межгосударственный стандарт по содержанию и уходу за лабораторными животными, 7-е переиздание, 2019 г».

Животным 1-й (гепатоз) группы посттоксический хронический гепатоз моделировали интраперитонеальным введением 50% раствора CCl_4 на оливковом масле в объеме 1 мл/кг массы тела и через поилку — 6.5% водного раствора этилового спирта (в среднем 40 мл на крысу) в течение 60 сут до формирования цирроза печени. Животным 2-й (гепатоз+ОД) группы формировали посттоксический гепатоз также как и животным 1-й группы, но начиная с 30-х до 60-и суток эксперимента, кратностью 1 раз в каждые 4 дня интраперитонеально вводили по 2 мл 5% водного раствора ОД (40 кДа). Животных всех групп содержали на стандартной лабораторной диете, в стандартных условиях вивария и выводили из эксперимента на 90-е сутки от начала введения токсических факторов путём декапитации под наркозом из смеси тилетамина (50 мг) и золазепам (50 мг) по 0,1 мл на 100 г массы тела.

Образцы печени подвергали стандартной ги-

стологической обработке. Из каждого образца, заключенного в парафин, на микротоме Microm HM355S (Thermo Scientific, США) готовили гистологические срезы толщиной 5–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое окрашивание срезов проводили с использованием стандартного пероксидазного метода с моноклональными антителами к MMP-2, MMP-9, TIMP-1 в разведении, рекомендованном производителем (Abcam, США).

Морфометрическое исследование проводили с использованием светового микроскопа AxioStar (Carl Zeiss, Германия). Численную (Nai) плотность экспрессированных антителами структур определяли с помощью закрытой тестовой системы из 25 точек площадью 1600 мкм² при увеличении в 400 раз в 80 полях зрения для каждой группы [17].

Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). Вероятность достоверности различий между сравниваемыми средними величинами ($M \pm m$) определяли с помощью критерия Стьюдента при условии нормального распределения величин в вариационном ряду, оцениваемому по коэффициентам асимметрии и эксцесса. Различия считали статистически достоверными при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У крыс 1-й (гепатоз) группы к 60-м суткам формировалось и сохранялось на 90-е сутки характерное для цирроза печени строение: она была плотной, узловатой, а при гистологическом исследовании печени паренхима была представлена ложными дольками (рис. 1). У животных 2-й (гепатоз+ОД) группы печень была с гладкой поверхностью, плотно-эластической консистенции, а при гистологическом исследовании в некоторых полях зрения в паренхиме встречались структуры, напоминающие ложные дольки.

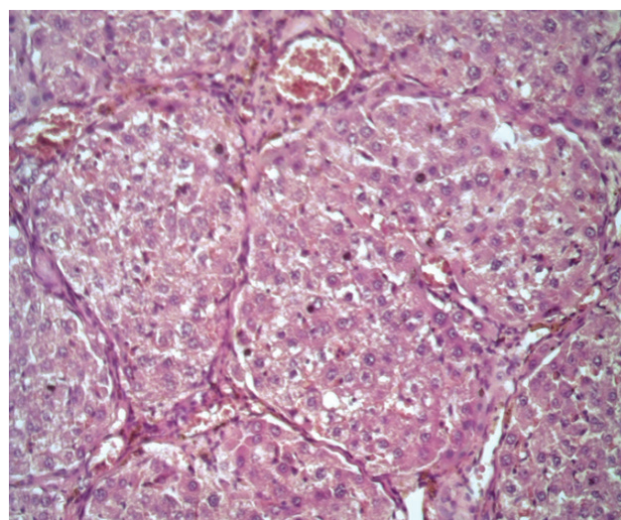


Рис 1. Ложные дольки в печени крысы 1-й группы (гепатоз) на 60-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$.

При иммуногистохимическом исследовании обнаруживали, что количество клеток Купфера, экспрессирующих ММР-2 и ММР-9 (рис. 2), уменьшалось с 60-х по 90-е сутки в обеих группах. При этом величина исследуемого показателя у крыс 2-й (гепатоз+ОД) группы была меньшей на 60-е (ММР-2 - на 35%, $p \leq 0,05$; ММР-9 - на 40%, $p \leq 0,05$) и 90-е сутки (ММР-2 и ММР-9 - в 2 раза), в сравнении с аналогичными показателями у животных 1-й (гепатоз) группы (табл. 1). Уменьшение количества экспрессирующих ММР-2 и ММР-9 клеток Купфера на 90-е сутки у крыс 1-й (гепатоз) группы связывали с прекращением токсического воздействия после 60-х суток согласно условиям эксперимента, и, как следствие, уменьшением деструктивных изменений в печени животных.

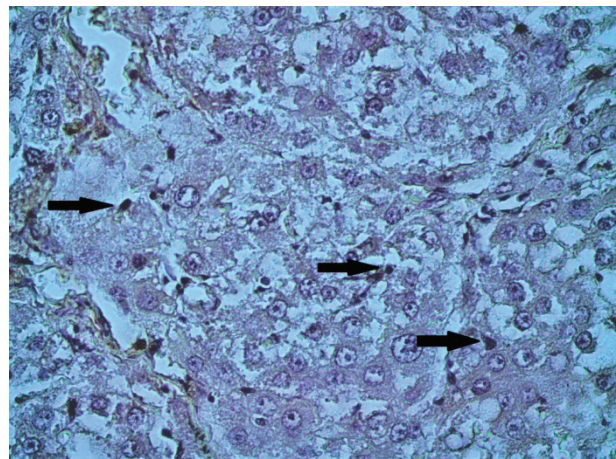


Рис. 2. Экспрессия ММР-2 в клетках Купфера (показано стрелками) печени крысы 1-й группы (гепатоз) на 60-е сутки эксперимента. Иммуногистохимическое окрашивание с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 200$.

Таблица 1.

Численные плотности (Nai) клеток Купфера, экспрессирующих ММР-2, ММР-9, TIMP-1 в печени крыс при хроническом гепатозе смешанной токсической этиологии ($M \pm m$).

Исследуемый показатель	Период эксперимента (сутки)	Исследуемая группа	Результат исследования
Клетки Купфера, экспрессирующих ММР-2	60	1 группа	$3,4 \pm 0,21$
		2 группа	$2,2 \pm 0,13^*$
	90	1 группа	$2,5 \pm 0,15$
		2 группа	$1,2 \pm 0,12^*$
Клетки Купфера, экспрессирующих ММР-9	60	1 группа	$3,7 \pm 0,33$
		2 группа	$2,2 \pm 0,18^*$
	90	1 группа	$2,2 \pm 0,21$
		2 группа	$1,1 \pm 0,14^*$
Клетки Купфера, экспрессирующих TIMP-1	60	1 группа	$1,1 \pm 0,15$
		2 группа	$3,4 \pm 0,15^*$
	90	1 группа	$3,0 \pm 0,11$
		2 группа	$1,3 \pm 0,16^*$

Примечание: * отмечены достоверные различия средних величин показателей в печени у крыс, получавших ОД (2-я группа) в сравнении с животными 1-й группы (гепатоз)), $p \leq 0,05$

При исследовании количества клеток Купфера, экспрессирующих TIMP-1, обнаружили, что на 60-е сутки величина данного показателя у крыс получавших ОД (2-я группа) была в 3 раза большей ($p \leq 0,05$), в сравнении с таковой у животных 1-й (гепатоз) группы (таблица). К 90-м суткам эксперимента количество экспрессирующих TIMP-1 клеток Купфера у крыс 2-й (гепатоз+ОД) группы уменьшилось более, чем в 2 раза, и оказалась в 2 раза меньшей, в сравнении с таковым у крыс 1-й (гепатоз+ОД) группы (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Высокое количество экспрессирующих ММР-2 и ММР-9 клеток Купфера при малом количестве экспрессирующих TIMP-1 аналогичных клеток у крыс 1-й (гепатоз) группы на 60-е сутки соответствует данными литературы, в которых было показано

преобладание экспрессии ММР-2, ММР-9 над TIMP-1 в периферической крови при прогрессировании цирроза печени и идиопатического легочного фиброза [18–20]. На 90-е сутки в связи с прекращением введения животным токсических факторов деструктивные процессы прекратились, что привело к снижению экспрессии ММР 1 и 2, и увеличению экспрессии TIMP в клетках Купфера.

Ранее было показано, что уменьшение количества фибробластов и объемной плотности (Vv) коллагена в печени у крыс с посттоксическим циррозом при применении ОД сопровождалось увеличением «фибропластической активности» (объем коллагена приходящийся на 1 фибробласт) фибробластов, и уменьшение фиброза в печени связывали с «блокадой» сборки коллагена, обусловленной образованием альдегид-альдегидной связи тропоколлагена и окисленного декстрана [9, 10].

В нашем исследовании двукратное уменьшение количества клеток Купфера, экспрессирующих MMP-1 и MMP-2 в период с 60-х по 90-е сутки эксперимента у крыс 2-й группы (гепатоз+ОД), при выраженной активизации TIMP-1 в резидентных макрофагах на 60-е сутки и дальнейшим существенным уменьшением количества (в 3 раза) экспрессирующих TIMP-1 клеток Купфера к 90-м суткам, может указывать еще на один из вероятных механизмов снижения фиброобразования печени при применении ОД, связанных с преобладанием MMP-1 и MMP-

2 над TIMP-1 на 90-е сутки эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты указывают на антифибротический эффект ОД при хроническом токсическом гепатозе, препятствующий формированию цирроза печени, что обусловлено, вероятно, как процессами деградации коллагена во внеклеточном матриксе под влиянием MMP-2, MMP-9, так и нарушением процесса сборки коллагена из тропоколлагена.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Ye F, Zhai M, Long J et al. The burden of liver cirrhosis in mortality: Results from the global burden of disease study. *Front Public Health* 2022;10:909455. <http://doi.org/10.3389/fpubh.2022.909455>.
2. Moon AM, Singal AG, Tapper EB. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020;18:2650–2666. <http://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.07.060>.
3. Альтшулер В.Б. Алкоголизм. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. С. 28–31.
4. Altshuler VB. Alcoholism. M.: GEOTAR-Media; 2010. pp. 28–31. (In Russ.).
5. Rajesh M. Environmental risk factors implicated in liver disease. *Front Public Health* 2021;10:2296–2565. <http://doi.org/10.3389/fpubh.2021.683719>.
6. Дядык А.И., Багрий А.Э., Вишневский И.И. с соавт. Цирроз печени. Новости медицины и фармации 2013;5(449):24–31.
7. Dyadyk AI, Bagrii AE, Vishnivetsky II et al. Liver cirrhosis. *News of medicine and pharmacy = Novosti mediciny i farmacii* 2013;5(449):24–31. (In Russ.).
8. Копоть М.Ю., Федотова А.А. Сравнительная оценка экспериментальных моделей цирроза печени у крыс, применяемых в изучении заболеваний печени. Известия Российской военно-медицинской академии 2018;37(1):337–341.
9. Kopot MYu, Fedotova AA. Comparative evaluation of experimental models of liver cirrhosis in rats used in the study of liver diseases. *Proceedings of the Russian Military Medical Academy= Izvestiya Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii* 2018;37(1):337–341. (In Russ.).
10. Min F, Jie D, Min W et al. Kupffer-derived matrix metalloproteinase-9 contributes to liver fibrosis resolution. *Int J Biol Sci* 2018;14(9):1033–1040. <http://doi.org/10.7150/ijbs.25589>.
11. Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives. *Cells* 2020;9:875. <https://doi.org/10.3390/cells9040875>.
12. Tao L, Yi Y, Chen Y et al. RIP1 kinase activity promotes steatohepatitis through mediating cell death and inflammation in macrophages. *Cell Death Differ* 2021;28:1418–1433. <http://doi.org/10.1038/s41418-020-00668-w>
13. Liedtke C, Nevzorova YA, Luedde T et al. Liver fibrosis – from mechanisms of injury to modulation of disease. *Front Med (Lausanne)* 2022;8:814496. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.814496>.
14. Jefferis BJ, Whincup P, Welsh P et al. Prospective study of matrix metalloproteinase-9 and risk of myocardial infarction and stroke in older men and women. *Atherosclerosis* 2010;208(2):557–563.
15. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы в развитии фиброза почек при сахарном диабете. Проблемы эндокринологии 2012;58(1):39–44.
16. Bondar IA, Klimontov VV. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of kidney fibrosis in diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology= Problemy endokrinologii* 2012;58(1):39–44. (In Russ.).
17. Kremastiotis G, Handa I, Jackson C et al. Disparate effects of MMP and TIMP modulation on coronary atherosclerosis and associated myocardial fibrosis. *Sci Rep* 2021;11(1):23081. <http://doi.org/10.1038/s41598-021-02508-4>.
18. Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. *Matrix Biol* 2015;44–46:147–156. <http://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.004>.
19. Карпов М.А., Клочин В.Д., Шкурупий В.А. Исследование влияния окисленного декстрана на процессы фиброобразования в печени крыс при токсических гепатозах и циррозе печени. *Сибирский научный медицинский журнал* 2022;42(1):49–55. <http://doi.org/10.18699/SSMJ20220105>.
20. Karpov MA, Klochin VD, Shkurupiy VA. Study of the effect of oxidized dextran on the processes of fibrosis in the liver of rats with toxic hepatitis and liver cirrhosis. *Siberian scientific medical journal= Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* 2022;42(1):49–55. (In Russ.).
21. Карпов М.А., Клочин В.Д., Надеев А.П. и соавт. Структурные изменения в печени при посттоксическом циррозе и его лечении окисленным декстраном. Иммуногистохимическое исследование. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2022;174(9):392–395.
22. Karpov MA, Klochin VD, Nadeev AP et al. Structural changes in the liver in posttoxic cirrhosis and its treatment with oxidized dextran. Immunohistochemical study. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine= Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* 2022;174(9):392–395. (In Russ.).
23. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина; 2002. С. 95–105.
24. Avtandilov G. Fundamentals of quantitative pathological anatomy. M.: Medicine; 2002. pp. 95–105. (In Russ.).
25. Скуратов А.Г., Лызилов А.Н., Воропаев Е.В. с соавт. Роль регуляторов ремоделирования печеночной ткани MMP-9

и TIMP-1 в прогрессировании цирроза печени. Проблемы здоровья и экологии 2019;62(4):88–94.
Skuratov AG, Lyzikov AN, Voropaev EV et al. The role of hepatic tissue remodeling regulators MMP-9 and TIMP-1 in the progression of liver cirrhosis. *Problems of health and ecology = Problemy zdorov'ya i ekologii* 2019;62(4):88–94. (In Russ.).
19. Todd JL, Vinisko R, Liu Y et al. Circulating matrix metalloproteinases and tissue metalloproteinase inhibitors in patients with idiopathic pulmonary fibrosis in the multicenter IPF-PRO Registry cohort. *BMC Pulmonary Medicine* 2020;20(64):1–12. <https://doi.org/10.1186/s12890-020-1103-4>.
20. Zdanowicz K, Kowalczyk-Kryston M, Olanski W et al. Increase in serum MMP-9 and TIMP-1 concentrations during alcohol intoxication in adolescents – a preliminary study. *Biomolecules* 2022;12:710. <https://doi.org/10.3390/biom12050710>.

Сведения об авторах:

Михаил Александрович Карпов – кандидат медицинских наук;

Александр Петрович Надеев – доктор медицинских наук, профессор;

Виталий Дмитриевич Клочин – научный сотрудник;

Вячеслав Алексеевич Шкурупий – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН;

Лариса Юрьевна Костина – кандидат медицинских наук.

Information about the authors:

Mikhail A. Karpov – Ph.D. in medicine;

Alexandr P. Nadeev – Doctor of Science (Medicine), Professor;

Vitalii D. Klochin – Researcher;

Viacheslav A. Shkurupiy – Doctor of Science (Medicine), Professor, RAS academician;

Larisa Yu. Kostina – Ph.D. in medicine.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interest.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

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

Этическая экспертиза не требуется.

Ethical review is not required.

Информированное согласие не требуется.

Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 15.02.2023; одобрена после рецензирования 28.02.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 15.02.2023; approved after reviewing 28.02.2023; accepted for publication 01.04.2023.

PDCD4 И CDX-2 КАК ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АТРОФИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ

В.А. Рубцов¹, А.Г. Шиманская², М.Н. Парыгина³, С.И. Мозговой⁴, Е.Г. Поморгайло⁵,
А.В. Кононов⁶

Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

¹ rubtsov.omgmu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1834-3629>

² shimanskaya.anna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0949-8709>

³ mariyakern@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8006-3260>

⁴ simozgovoy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7200-7082>

⁵ elenapom@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9857-1674>

⁶ ogmapath@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8607-7831>

Аннотация

Введение. Диагностика атрофии слизистой оболочки желудка представляет собой важную проблему, от решения которой зависит возможность осуществления вторичной профилактики рака желудка. Возможным путем решения выступает применение иммуногистохимических маркеров – белков, ассоциированных с клеточной перестройкой слизистой оболочки желудка, PDCD4 и CDX2. **Цель работы** – оценка возможности использования иммуногистохимических маркеров PDCD4 и CDX-2 для диагностики атрофии слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите, повышения информативности биопсийного исследования. **Материалы и методы.** Объект исследования – 155 случаев биопсийного исследования слизистой оболочки желудка пациентов с хроническим гастритом (5 фрагментов на случай – 775 биоптатов). Была проведена сравнительная полуколичественная оценка иммуногистохимической экспрессии CDX2, PDCD4 при разных стадиях хронического гастрита. Для оценки корреляционной взаимосвязи использовался коэффициент корреляции Спирмена. **Результаты.** Статистически значимые отличия в уровне PDCD4 в исследуемых образцах в зависимости от стадии хронического гастрита отсутствовали, $p=0,06$. Статистически достоверное повышение индекса CDX2_{сумм} при прогрессировании стадии хронического атрофического гастрита ($p=0,005$), продемонстрировало выраженную положительную корреляционную взаимосвязь $r=0,70$ ($p<0,01$). **Обсуждение.** Согласно полученным результатам, показано, что падение продукции белка PDCD4 не происходит при прогрессировании выраженности атрофии. Вспомогательное использование иммуногистохимического маркера CDX2 способно дать представление о наличии и выраженности как метапластических, так и абсолютных атрофических изменений слизистой оболочки желудка. **Заключение.** Одинаково высокий уровень индекса белка PDCD4 в слизистой оболочке желудка при различных стадиях хронического гастрита исключает возможность его использования в качестве иммуногистохимического маркера атрофии. Индекс полуколичественной иммуногистохимической оценки белка CDX2 может быть использован в качестве дополнительного маркера в системе поддержки принятия решений при оценке атрофических изменений в слизистой оболочке желудка. **Ключевые слова:** хронический гастрит, PDCD4, CDX2, атрофия слизистой оболочки желудка.

Для цитирования: Рубцов В.А., Шиманская А.Г., Парыгина М.Н. с соавт. PDCD4 и CDX-2 как иммуногистохимические маркеры атрофии слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):40-48. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-40-48>.

PDCD4 AND CDX-2 AS IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF GASTRIC MUCOSA ATROPHY IN CHRONIC GASTRITIS

V.A. Rubtsov¹, A.G. Shimanskaya², M.N. Parygina³, S.I. Mozgovoi⁴, E.G. Pomorgailo⁵, A.V. Kononov⁶

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

¹ rubtsov.omgmu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1834-3629>

² shimanskaya.anna@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0949-8709>

³ mariyakern@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8006-3260>

⁴ simozgovoy@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7200-7082>

⁵ elenapom@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9857-1674>

⁶ ogmapath@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8607-7831>

Abstract

Introduction Diagnosis of the gastric mucosa atrophy represents an important problem, the solution of which depends on the possibility of secondary prevention of gastric cancer. A possible way of solution is the use of immunohistochemical markers - proteins associated with cellular remodeling of gastric mucosa, PDCD4 and CDX2. **The aim of the work** is to evaluate the possibility of using immunohistochemical markers PDCD4 and CDX-2 to diagnose atrophy of the gastric mucosa in chronic gastritis and increase the informative value of biopsy examination. **Materials and method** The object of the study was 155 cases of biopsy examination of the gastric mucosa of patients with chronic gastritis (5 fragments per case – 775 biopsy specimens). A comparative semi-quantitative assessment of immunohistochemical expression of CDX2, PDCD4 at different stages of chronic gastritis was performed. Spearman correlation coefficient was used to assess correlation relationship. **Results** There were no statistically significant differences in the level of PDCD4 in studied samples depending on the stage of chronic gastritis, $p=0.06$. Statistically significant increase of CDX2_{sum} index in progressing stage of chronic atrophic gastritis ($p=0.005$), demonstrated a pronounced positive correlation $r=0.70$ ($p<0.01$). **Discussion** According to the results obtained, it is shown that the decline in PDCD4 protein does not occur with the progression of atrophy severity. Complementary use of immunohistochemical marker CDX2 is able to give an idea of the presence and severity of both metaplastic and absolute atrophic changes in the gastric mucosa. **Conclusion** Equally high level of PDCD4 protein index in the gastric mucosa at different stages of chronic gastritis excludes the possibility of its use as an immunohistochemical marker of atrophy. Semi-quantitative immunohistochemical index of CDX2 protein can be used as an additional marker in decision support system for assessment of atrophic changes in gastric mucosa.

Key words: chronic gastritis, PDCD4, CDX2, gastric mucosa atrophy.

For citation:

Rubtsov VA, Shimanskaya AG, Parygina MN et al. PDCD4 and CDX-2 as immunohistochemical markers of gastric mucosa atrophy in chronic gastritis. Ural medical journal 2023;22(2):40-48. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-40-48>

ВВЕДЕНИЕ

Диагностика атрофии слизистой оболочки желудка представляет собой важную проблему, от решения которой зависит возможность осуществления вторичной профилактики рака желудка: интегральная выраженность атрофических изменений в биоптатах слизистой оболочки желудка антрального отдела и тела – стадия хронического гастрита – служит основанием для определения группы риска развития аденокарциномы, будучи важным начальным этапом канцерогенеза в слизистой оболочке желудка, получившего название каскада Р. Correa [1, 2]. В соответствии с международными протоколами эндоскопического ис-

следования оценка стадии хронического гастрита требует морфологического исследования пяти гастробиоптатов, однако соблюдение принятых протоколов лишь в 4% наблюдений [3, 4] делает невозможным высказывание о стадии хронического гастрита в большинстве исследуемых диагностических случаев.

Возможным путем решения проблемы диагностики атрофии по недостаточно репрезентативному биопсийному материалу и оценки риска развития аденокарциномы желудка выступает применение иммуногистохимических маркеров – белков, ассоциированных с клеточной перестройкой слизистой оболочки желудка, в том числе CDX2

– белка, являющегося продуктом гена кишечной дифференцировки, который является наиболее универсальным маркером метапластической атрофии [5, 6, 7], определяющегося в ядрах эпителиоцитов при наличии кишечной метаплазии. Оценка иммуногистохимической экспрессии CDX2 представляется перспективным способом объективизации определения стадии хронического атрофического гастрита на основе выраженности атрофии в слизистой оболочке желудка и служит мерой стратификации риска развития рака желудка.

Также возможным подходом решения проблемы может быть оценка экспрессии молекулярных маркеров, ассоциированных с канцерогенезом с атрибутированием изменений в их показателях с риском развития рака желудка. PDCD4 (programmed cell death protein 4) – один из ключевых белков-онкосупрессоров, который подавляет избыточный синтез белков за счет регуляции активности эукариотического комплекса инициации трансляции [8]. Потеря продукции PDCD4 в результате прекращения подавления трансляции ведет к увеличению пролиферативного потенциала, подавлению апоптоза, эпителиально-мезенхимальному переходу, увеличению клеточной подвижности [9] и, как следствие, к инициации и прогрессии злокачественных опухолей, в том числе ассоциирована с канцерогенезом при раке желудка [10, 11]. В связи с этим высокий интерес представляет оценка изменения продукции PDCD4 при атрофии, как одном из наиболее широко встречающимся вариантов ранних предраковых изменений в слизистой оболочке желудка.

Работа подготовлена, в том числе, на основе диссертационного исследования М.Н. Парыгиной: «Маркерный принцип верификации атрофии слизистой оболочки желудка в биопсийной диагностике хронического гастрита», защищена 22.03.2022 г., диссертационный совет 21.2.048.03 при ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск.

Цель работы – оценка возможности использования иммуногистохимических маркеров PDCD4 и CDX-2 для диагностики атрофии слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите, повышения информативности биопсийного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были биоптаты слизистой оболочки желудка, полученные от 155 пациентов с хроническим гастритом при проведении фиброгастроскопии с забором материала из 5 точек (775 биоптатов), из которых 70 пациентов – мужчины, 85 – женщины. Локализация точек забора фрагментов соответствовала протоколу системы классификации хронического гастрита OLGA [12]. Для проведения исследования с использованием модифицированной ручной методики [13] образ-

цы слизистой оболочки желудка были сформированы в тканевые матрицы по 20 и 25 фрагментов. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка описывали в соответствии с протоколами Модифицированной Сиднейской системы. Стадию хронического гастрита (суммарная выраженность атрофии) оценивали при помощи визуально-аналоговой шкалы Российского пересмотра Международной классификации хронического гастрита OLGA [14].

Проводку материала, заливку в парафин, приготовление парафиновых срезов и окраску гематоксилином-эозином проводили по общепринятой методике. Для типирования очагов кишечной метаплазии и определения профиля экспрессируемых эпителиоцитами муцинов применяли комбинированные гистохимические методики окраски (альциановый синий при pH=2,5, ШИК-реакция, диамин железа) [15].

Иммуногистохимические реакции были выполнены на 4mM парафиновых срезах, депарафинизация и регидратация, демаскировка антигена, проводились по стандартному протоколу, в соответствии с инструкцией производителя. Оценка экспрессии CDX2 проводилась в образцах 155 случаев с использованием мышиных моноклональных антител CDX2 (Cell Marque, США), клон EPR2764Y в разведении RTU (готовые к использованию). Оценка экспрессии PDCD4 была выполнена в образцах 72 случаев с использованием кроличьих моноклональных антител PDCD4 (клон EP 102, «abcam», США) в разведение 1:100. Система визуализации KP-500 («Diagnostic BioSystems», США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера в течение 30 секунд – 2 минут.

Для характеристики экспрессии CDX2 использовали разработанный индекс оценки, учитывающий интенсивность, протяженность и паттерн окрашивания [16]. Результаты экспрессии PDCD4 оценивались с использованием полуколичественного иммуногистохимического индекса, учитывающего интенсивность и распространенность окрашивания ядерной и цитоплазматической фракции белка [17]. Была проведена оценка полового распределения экспрессии CDX2 и PDCD4, сравнительная характеристика экспрессии маркеров в слизистой оболочке желудка в зависимости от стадии хронического гастрита.

Данные описательной статистики представлены в виде медианы, 25 и 75 персентеля, минимального и максимального значения. Аналитическая статистика выполнялась в программном пакете Statistika 10.0. При сравнении подгрупп применялся критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным попарным сравнением с использованием U-критерия Манна–Уитни. При оценке распределения стадии хронического гастрита OLGA в зависимости от пола пациентов с использованием критерия Манна–Уитни статистиче-

ски достоверных отличий обнаружено не было ($p=0,83$). Для оценки корреляционной взаимосвязи использовался коэффициент корреляции Спирмена, ROC-анализ с оценкой доверительных интервалов [ДИ] использовался для определения чувствительности и специфичности, оптимального порога отсека модели.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 84 из 155 случаев стадия хронического гастрита была обусловлена сочетанием метапластической и абсолютной атрофии слизистой оболочки желудка, в 40 случаях (26%) – I–II стадии и в 44 наблюдениях (28%) – III–IV стадии. Абсолютная атрофия слизистой оболочки желудка в отсутствие метапластической встречалась в 71 наблюдении, из которых 60 наблюдений (39%) – I–II стадии и 11 (7%) – III–IV стадии (табл. 1).

Таблица 1.

Распределение диагностических случаев по стадиям в соответствии с классификационными характеристиками, определенными по визуальным аналоговым шкалам Российского пересмотра Международной классификации OLGA

Стадии	Число случаев	
	абс.	%
Стадия I OLGA	47	30
Стадия II OLGA	53	34
Стадия III OLGA	33	21
Стадия IV OLGA	22	15
Всего	155	100

При гистохимическом исследовании биоптатов слизистой оболочки желудка в зонах абсолютных атрофических изменений в покровно-ямочном эпителии антрального отдела и тела желудка было отмечено истончение слоя ШИК-позитивных гликопротеинов, приобретающего вид тонкой малиновой полосы, также было отмечено смещение ШИК-позитивных мукоцитов в направлении шейки желез, что расценивалось как косвенный показатель абсолютной атрофии.

В участках кишечной метаплазии цитоплазма бокаловидных клеток при окраске альциановым синим при pH=2,5 приобретала сине-голубой цвет, что свидетельствовало о преобладании сиаломуцинов. При преобладании нейтральных муцинов после проведения ШИК-реакции цитоплазма бокаловидных клеток имела пурпурно-красный оттенок; при сочетании нейтральных и сиаломуцинов окрашивалась в фиолетовый цвет. В отдельных биоптатах слизистой оболочки антрального отдела желудка при окраске диамином железа была выявлена продукция сульфомуцинов бокаловидными и высокими цилиндрическими клетками, что позволило диагностировать толстокишечный тип метаплазии (III). В высоких цилиндрических клетках, расположенных между бокаловидными, в очагах

полной тонкокишечной метаплазии ШИК-реакция позволила выявить тонкую ШИК-позитивную полосу на апикальном крае клеток. В очагах неполной метаплазии в апикальных частях клеток определялись мелкие ШИК-позитивные вакуоли.

Результаты иммуногистохимической оценки экспрессии белка PDCD4. При анализе результатов иммуногистохимической оценки белка PDCD4 в исследуемых образцах отмечалась выраженная ядерная метка и слабая/умеренная цитоплазматическая метка в эпителиальных клетках как в образцах с признаками выраженного воспаления (14 образцов) и атрофии желез (16 образцов), так и в случае наличия кишечной либо пилорической метаплазии (37 образцов). Отличий в экспрессии белка PDCD4 в слизистой оболочке желудка в зависимости от пола (35 мужчин, 37 женщин) с использованием критерия Манна-Уитни обнаружено не было ($p=0,45$). Медиана индекса белка PDCD4 составила 10 баллов, интерквартильная широта – от 10 до 11 баллов.

При разделении случаев на подгруппы по стадиям хронического гастрита согласно системе OLGA было отмечено незначительное снижение интерквартильной широты и минимальных значений индекса белка PDCD4 в случаях, соответствующих III–IV стадии по сравнению со стадией I–II, а медиана всех подгрупп сохранялась на одинаково высоком уровне и составила 10 баллов. При этом по результатам сравнения с использованием критерия Краскела-Уоллиса статистически значимые отличия в уровне белка PDCD4 в исследуемых образцах в зависимости от стадии хронического гастрита отсутствовали ($p=0,06$), что свидетельствует об отсутствии связи между стадией хронического гастрита по системе классификации хронического гастрита OLGA и уровнем продукции белка PDCD4 (табл. 2, рис. 1).

Таблица 2.

Распределение индекса полуколичественной иммуногистохимической оценки белка PDCD4 в зависимости от стадии хронического гастрита по классификации OLGA

Индекс	Стадия хронического гастрита				Критерий Краскела-Уоллиса
	I	II	III	IV	
PDCD4 Me (25-75%)	10 баллов (10-11)	10 баллов (10-11)	10 баллов (9-10)	10 баллов (10-11)	$p=0,06$

Результаты иммуногистохимической оценки экспрессии белка CDX2. При иммуногистохимической оценке CDX2 очаги метапластической атрофии характеризовались экспрессией CDX2 во всех клетках; ядерная метка имела ярко-коричневый цвет в участках полной тонкокишечной метаплазии (тип I) и светло-коричневый цвет – в очагах неполной кишечной метаплазии (типы IIA, IIB, III).

Иммуногистохимическая экспрессия CDX2 также отмечалась в клетках желудочного эпителия.

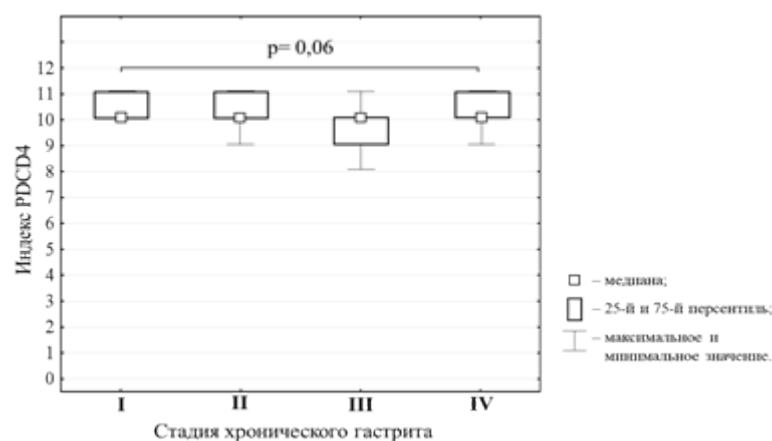


Рис. 1. Распределение индекса полуколичественной иммуногистохимической оценки белка PDCD4 в зависимости от стадии хронического гастрита по классификации OLGA

Несмотря на наличие сочетания CDX2-положительных меток в желудочном эпителии и участка кишечной метаплазии в пределах того же биоптата (26 случаев из 69), в большинстве случаев (43 случая из 69) CDX2-положительные метки в желудочном эпителии встречались изолированно. Путем суммирования значений индекса CDX2 в каждой из 5 точек слизистой оболочки желудка исследуемого случая был рассчитан индекс $CDX2_{\text{сумм}}$. Отличий значений индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в слизистой оболочке желудка в зависимости от пола с использованием критерия Манна-Уитни обнаружено не было ($p=0,3$). При оценке распределения в зависимости от стадии хронического гастрита минимальные значения ин-

декса $CDX2_{\text{сумм}}$ были обнаружены при стадии I (Me 4 (0–9) балла), при стадии II отмечалось незначительное повышение индекса (Me 9 (4–11) баллов), тогда как при стадии III индекс $CDX2_{\text{сумм}}$ уже демонстрирует значительный рост (Me 13 (12–29) баллов) и достигает максимальных значений при стадии IV (Me 31 (25–34) баллов). При оценке различий значений индекса между диагностическими случаями, отнесенными к различным стадиям хронического атрофического гастрита (стадия I–IV) с использованием критерия Краскела-Уоллиса было обнаружено статистически достоверное повышение индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ при повышении стадии хронического атрофического гастрита ($p=0,005$) (табл. 3).

Таблица 3.

Распределение значений индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в зависимости от стадии хронического гастрита по классификации OLGA

Индекс	Стадия хронического гастрита				Критерий Краскела-Уоллиса
	I	II	III	IV	
$CDX2_{\text{сумм}}$ Me (25 - 75 %)	4 балла (0-9)	9 баллов (4-11)	13 балла (12-29)	31 балл (25-34)	$p=0,005$

При апостериорном попарном сравнении подгрупп с использованием критерия Манна-Уитни: стадия I – стадия II ($p=0,004$), стадия II – стадия III

($p<0,001$) и стадия III – стадия IV ($p<0,001$) также было продемонстрировано наличие достоверных отличий (рис. 2).

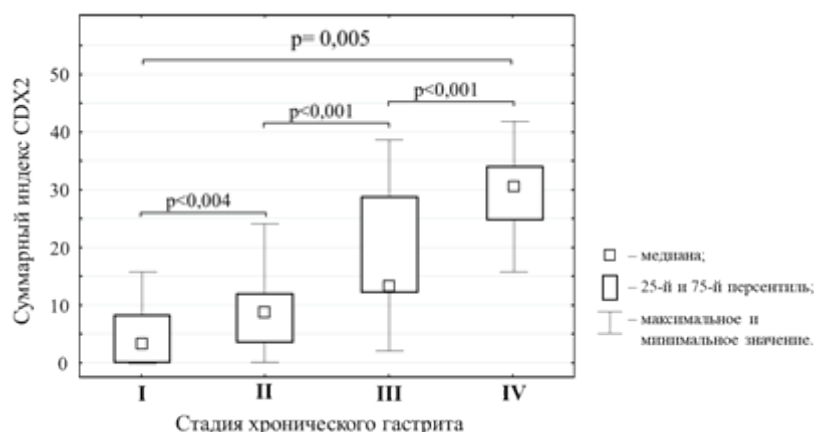


Рис. 2. Распределение суммарного индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в зависимости от стадии хронического гастрита по классификации OLGA

Наибольший интерес с диагностических позиций имеет обнаружение достоверных различий в значениях индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ между пограничными в отношении риска развития рака желудка стадиями хронического гастрита II и III (стадии I-II по OLGA-system соответствуют низкому риску, стадии III-IV по OLGA-system – высокому риску развития рака желудка), при апостериорном расчете критерия Манна-Уитни было подтверждено наличие различий между данными группами ($p < 0,001$), аналогичная закономерность сохранялась и при исключении из выборки случаев с метапластической атрофией ($p < 0,001$).

Для оценки возможности использования индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в качестве диагностического маркера, позволяющего установить стадию хронического гастрита, был проведен корреляционный анализ на выборке всех диагностических случаев исследования с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Его значение для всех диагностических случаев составило $r = 0,70$ ($p < 0,01$), что соответствует выраженной положительной корреляции. Выраженная положительная корреляция сохранялась также для случаев выборки с сочетанием в биоптатах абсолютной и метапластической атрофии $r = 0,79$ ($p < 0,01$); для случаев, где стадия OLGA была обусловлена наличием только абсолютных атрофических изменений, коэффициент Спирмена принимал значение, равное 0,42 при $p < 0,01$ (соответствует положительной корреляции умеренной силы).

Для установления порога отсечения индекса $CDX2_{\text{сумм}}$, соответствующего стадии хронического атрофического гастрита III-IV и, таким образом, высокому риску развития рака желудка, был проведен ROC-анализ, по результатам которого площадь под кривой (AUC) составила 0,893 [ДИ 0,842; 0,945] (рис. 3).

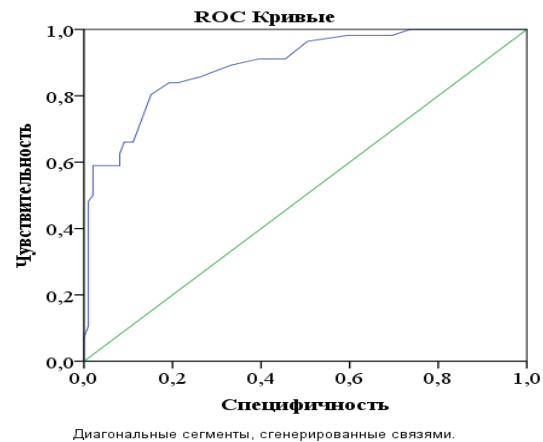


Рис. 3. ROC-кривая; переменная отклика – принадлежность к стадиям III-IV по системе OLGA, предикторная переменная – индекс $CDX2_{\text{сумм}}$

Оптимальный порог отсечения индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ при максимальной суммарной чувствительности и специфичности, составил 12 баллов), этой величине соответствовала чувствительность 80%, специфичность – 84% (табл. 4).

Таблица 4.

Пороги отсечения в зависимости от целевого критерия

Целевой критерий	Чувствительность	ДИ	Специфичность	ДИ	Значение порога, балл
Чувствительность	100%	93,6 - 100,0	26,3%	17,9 - 36,1	0
Специфичность	7,2%	2,0 - 17,3	100%	96,3 - 100,0	36
Суммарная чувствительность и специфичность	80,4%	67,6 - 89,8	84,8%	76,2 - 91,3	12

ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностика атрофии слизистой оболочки желудка с определением ее интегральной выраженности является важнейшей мерой стратификации риска развития рака желудка и наиболее значимым инструментом канцерпревенции [18]. В работах, оценивающих экспрессию маркеров $CDX2$ и $PDCD4$, также сообщалось об отсутствии достоверных отличий в зависимости от пола и возраста, что свидетельствует о низкой вероятности половых отличий в экспрессии маркеров в слизистой оболочке желудка [19-21]. Несмотря на то, что иммуногистохимический метод исследования гастробиоптатов не является в настоящее время альтернативой оценки хронического гастрита в соответствии с международным протоколом OLGA, его применение востребовано в условиях недостаточно репрезентативного биопсийного материала (нарушение международных протоколов взятия

биоптатов) [22, 23].

С учетом статуса ключевого белка-онко-прессора можно было ожидать начала снижения продукции $PDCD4$ в образцах слизистой оболочки желудка группы повышенного риска развития рака желудка, к которым относятся выраженная атрофия, соответствующая стадиям III-IV [24]. Но согласно полученным результатам, можно сделать вывод, что падение продукции белка $PDCD4$ не происходит при прогрессировании выраженности атрофии. Тенденция к снижению значений интерквартильной широты индекса белка $PDCD4$ в подгруппе образцов со стадией II и III по сравнению с образцами с I стадией с учетом увеличения ее значения при стадии IV и отсутствие достоверных различий согласно статистическим критериям свидетельствует об отсутствии значимости данной тенденции (табл. 2). Можно отметить, что медианное значение для всех подгрупп было оди-

наковым и составило 10 баллов, что также указывает на отсутствие связи между стадией хронического гастрита и уровнем продукции белка PDCD4. Полученные результаты в сочетании с показанными нами ранее выраженным снижением индекса белка PDCD4 в клетках аденокарциномы желудка [25] подтверждают нарушение его экспрессии только при возникновении неоплазии и, таким образом, отсутствие потенциала использования белка PDCD4 как иммуногистохимического маркера атрофии желез слизистой оболочки и предикции риска развития рака желудка [26].

Вспомогательное использование иммуногистохимического маркера CDX2, который является одним из ключевых компонентов молекулярных путей клетки, ассоциированных с развитием атрофии слизистой оболочки желудка, способно дать представление о наличии и выраженности как метапластических, так и абсолютных атрофических изменений слизистой оболочки желудка [27]. Он определяется в ядрах эпителиоцитов слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите любой градации атрофии (стадии 0-IV хронического гастрита по системе OLGA), что согласуется с результатами исследований, указывающих на предиктивный потенциал CDX2 [28,29]. При этом суммарные значения полуколичественного индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в пяти точках забора биопсийного материала постепенно возрастают по мере повышения стадии хронического атрофического гастрита по системе OLGA, согласуется с представлением CDX2 как драйвера атрофии слизистой оболочки при хроническом гастрите [30].

Прямая взаимосвязь индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ и интегральной выраженности атрофических изменений позволяет использовать полуколичественный иммуногистохимический индекс CDX2 как дополнительный суррогатный маркер атрофии в условиях дефицита биопсийного материала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одинаково высокий уровень индекса белка PDCD4 в слизистой оболочке желудка при различных стадиях хронического гастрита исключает возможность использования PDCD4 в качестве иммуногистохимического маркера оценки атрофии желез слизистой оболочки желудка и стадии хронического гастрита, что в свою очередь не позволяет рассматривать оценку индекса белка PDCD4 как фактор предикции риска развития рака желудка при ранних предраковых изменениях в слизистой оболочке желудка.

Белок CDX2 определяется в ядрах эпителиоцитов слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите любой градации атрофии (стадии 0-IV хронического гастрита по системе OLGA). При этом суммарные значения полуколичественного индекса $CDX2_{\text{сумм}}$ в пяти точках забора биопсийного материала достоверно постепенно возрастают по мере повышения стадии хронического атрофического гастрита по системе OLGA. Разработанный индекс полуколичественной иммуногистохимической оценки белка CDX2 может быть использован в качестве дополнительного маркера в системе поддержки принятия решений при оценке атрофических изменений в слизистой оболочке желудка.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. *Am J Gastroenterol* 1988;83(5):504–509.
- Rugge M, Genta RM, Graham DY et al. Chronicles of a cancer foretold: 35 years of gastric cancer risk assessment. *Gut* 2016;65(5):721–725. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310846>.
- Lash JG, Genta RM. Adherence to the sydney system guidelines increases the detection of helicobacter gastritis and intestinal metaplasia in 400738 sets of gastric biopsies. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38(4):424–431. <https://doi.org/10.1111/apt.12383>.
- Кононов А.В., Мозговой С.И., Поморгайло Е.Г. с соавт. Молекулярно-клеточные основы предикции рака желудка. Опыт мультидисциплинарного исследования. Уральский медицинский журнал 2017;148(4):9–18. Kononov AV, Mozgovoy SI, Pomorgailo EG et al. Molecular and cellular basis in prediction of gastric cancer: a multidisciplinary research experience. *Ural medical journal* 2017;148(4):9–18. (In Russ.).
- Chen HY, Hu Y, Lu NH et al. Caudal type homeoboxes as a driving force in Helicobacter pylori infection-induced gastric intestinal metaplasia. *Gut Microbes* 2020;12(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1809331>.
- Chawengsaksophak K. Cdx2 animal models reveal developmental origins of cancers. *Genes (Basel)* 2019;10(11):928. <https://doi.org/10.3390/genes10110928>.
- Yuan T, Ni Z, Han C et al. SOX2 interferes with the function of CDX2 in bile acid-induced gastric intestinal metaplasia. *Cancer Cell Int* 2019;19:24. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0739-8>.
- Matsuhashi S, Manirujjaman M, Hamajima H et al. Control mechanisms of the tumor suppressor PDCD4: expression and functions. *Int J Mol Sci* 2019;20(9):2304. <https://doi.org/10.3390/ijms20092304>.
- Biyane A, Ohnheiser J, Singh P et al. A novel mechanism for the control of translation of specific mRNAs by tumor suppressor protein Pdc4: inhibition of translation elongation. *Oncogene* 2015;34(11):1384–1392. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.83>.
- Li C, Deng L, Zhi Q et al. MicroRNA-183 functions as an oncogene by regulating pdc4 in gastric cancer. anticancer agents. *Med Chem* 2016;16(4):447–455. <https://doi.org/10.2174/1871520615666150914114237>.
- Chu J, Pelletier J. Targeting the eIF4A RNA helicase as an anti-neoplastic approach. *Biochim Biophys Acta* 2015;1849(7):781–791. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.09.006>.
- Rugge M, Correa P, Di Mario F et al. OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Dig Liver Dis* 2008;40(8):650–658. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.06.006>.

org/10.1016/j.dld.2008.02.030.

13. Способ формирования тканевых матриц для гистологического исследования: пат. 2711621 Рос. Федерация, №2018108688; заявл. 13.03.2018; опубл. 17.01.2020.

Method of forming tissue matrices for histological examination: pat. 2711621 Russian Federation, №2018108688; appl. 13.03.2018; publ. 17.01.2020. (In Russ.).

14. Кононов А.В., Мозговой С.И., Шиманская А.Г. с соавт. Российский пересмотр классификации хронического гастрита: воспроизводимость оценки патоморфологической картины. Архив патологии 2011;73(4):52–56.

Kononov AV, Mozgovoy SI, Shimanskaya AG et al. The Russian revision of chronic gastritis classification: reproducibility of the pathomorphologic picture. *Pathology Archive = Arkhiv patologii* 2011;73(4): 52–56. (In Russ.).

15. Мозговой С.И. Алгоритм определения типа кишечной метаплазии слизистой оболочки желудка с помощью комбинированных гистохимических методов. Архив патологии 2009; 71(4):46–47.

Mozgovoy SI. Algorithm for the determination of the type of intestinal metaplasia of the gastric mucosa by combined histochemical procedures. *Pathology Archive = Arkhiv patologii* 2009; 71(4):46–47. (In Russ.).

16. Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Шиманская А.Г. с соавт. Белок CDX2 как суррогатный маркер атрофии слизистой оболочки желудка. Журнал анатомии и гистопатологии 2021;10(3):60–67. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2021-10-3-60-67>.

Parygina MN, Mozgovoi SI, Shimanskaya AG et al. CDX2 protein as a surrogate marker of gastric mucosal atrophy. *Journal of Anatomy and Histopathology* 2021;10(3):60–67. (In Russ.). <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2021-10-3-60-67>.

17. Способ полуколичественной оценки белка PDCD4 иммуногистохимическим методом: пат. 2706005 Рос. Федерация, №2018135219; заявл. 04.10.2018; опубл. 13.11.2019.

Method for semiquantitative evaluation of PDCD4 protein by immunohistochemical method: pat. 2706005 Russian Federation, №2018135219; appl. 04.10.2018; publ. 13.11.2019. (In Russ.).

18. Rugge M, Genta RM. Gastric cancer prevention: Merging future hopes, with present clinical practice. *J Surg Oncol* 2022;126(4):838–839. <https://doi.org/10.1002/jso.26997>.

19. Xiao ZY, Ru Y, Sun JT et al. Expression of CDX2 and villin in gastric cardiac intestinal metaplasia and the relation with gastric cardiac carcinogenesis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13(1):247–250. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.1.247>.

20. Zhang J, Ma L, Shi D et al. Prognostic significance of miR-21 and PDCD4 in patients with stage II esophageal carcinoma after surgical resection. *J Cell Biochem* 2018;119(6):4783–4791. <https://doi.org/10.1002/jcb.26672>.

21. Neumann J, Heinemann V, Engel J et al. The prognostic impact of CDX2 correlates with the underlying mismatch repair status and BRAF mutational status but not with distant metastasis in colorectal cancer. *Virchows Arch* 2018;473(2):199–207. <https://doi.org/10.1007/s00428-018-2360-y>.

22. Salazar BE, Pérez-Cala T, Gomez-Villegas SI et al. The OLGA-OLGIM staging and the interobserver agreement for gastritis and preneoplastic lesion screening: a cross-sectional study. *Virchows Arch* 2022;480(4):759–769. <https://doi.org/10.1007/s00428-022-03286-8>.

23. Robertson S, Patil DT. An update on the role of immunohistochemistry in the evaluation of gastrointestinal tract disorders. *Adv Anat Pathol* 2020;27(3):193–205. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000214>.

24. Ferris WF. The role and interactions of programmed cell death 4 and its regulation by microRNA in transformed cells of the gastrointestinal tract. *Front Oncol* 2022;12:903374. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.903374>.

25. Рубцов В.А., Поморгайло Е.Г., Кононов А.В. Регуляторный белок PDCD4 в тканях слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите и раке желудка. Уральский медицинский журнал 2019;178(10):59–62. <https://doi.org/10.25694/URMJ.2019.10.14>.

Rubtsov VA, Pomorgailo EG, Kononov AV. PDCD4 regulatory protein in tissue gastric mucosa in chronic gastritis and stomach cancer. *Ural medical journal* 2019;178(10):59–62. (In Russ.). <https://doi.org/10.25694/URMJ.2019.10.14>.

26. Rong B, Chen X, Xie G et al. Gastric cancer growth modulated by circSNTB2/miR-6938-5p/G0S2 and PDCD4. *Comb Chem High Throughput Screen* 2022. <https://doi.org/10.2174/1386207326666221108112113>.

27. Koide T, Koyanagi-Aoi M, Uehara K et al. CDX2-induced intestinal metaplasia in human gastric organoids derived from induced pluripotent stem cells. *iScience* 2022;25(5):104314. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104314>.

28. Chen HY, Hu Y, Xu XB et al. Upregulation of oncogene Activin A receptor type I by *Helicobacter pylori* infection promotes gastric intestinal metaplasia via regulating CDX2. *Helicobacter* 2021;26(6):e12849. <https://doi.org/10.1111/hel.12849>.

29. Yagi K, Tsuchiya A, Hashimoto S et al. Pyloric-gland metaplasia may be an origin of cancer and intestinal metaplasia with possible CDX2 expression. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2020;9(4):370–373. <https://doi.org/10.1093/gastro/goaa061>.

30. Chen HY, Hu Y, Lu NH, et al. Caudal type homeoboxes as a driving force in *Helicobacter pylori* infection-induced gastric intestinal metaplasia. *Gut Microbes* 2020;9;12(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1809331>.

Сведения об авторах:

Вячеслав Александрович Рубцов – кандидат медицинских наук;
Анна Геннадьевна Шиманская – кандидат медицинских наук, доцент;
Мария Николаевна Парыгина – кандидат медицинских наук;
Сергей Игоревич Мозговой – доктор медицинских наук, доцент;
Елена Геннадьевна Поморгайло – доктор биологических наук, доцент;
Алексей Владимирович Кононов – доктор медицинских наук, профессор.

Information about authors:

Vjacheslav A. Rubtsov – Ph.D. in medicine;
Anna G. Shimanskaya – Ph.D. in medicine, Associate Professor;
Marija N. Parygina – Ph.D. in medicine;
Sergej I. Mozgovoi – Doctor of Science (Medicine), Associate Professor;
Elena G. Pomorgailo – Doctor of Science (Biology), Associate Professor;
Aleksej V. Kononov – Doctor of Science (Medicine), Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке грантов: Президента РФ «Разработка высоковалидных молекулярно-клеточных и эпигеномных сигнатур для оценки персонифицированного риска и ранней диагностики рака желудка» № госрегистрации НИР – АААА-А17-117041210205-6, Грант МД-692.2017.7, «УМНИК ХЕЛСНЕТ НТИ» № 39778 «Разработка предсказательной тест-системы для персонифицированной ранней оценки риска развития рака желудка» 2018–2020 гг, «Фонд Содействия Инноваций».

Funding source. The work was supported by grants: President of the Russian Federation “Development of highlyvalid molecular cellular and epigenomic signatures for personalized risk assessment and early diagnosis of gastric cancer” State Registration Number of R&D - АААА-А17-117041210205-6, Grant MD-692.2017.7, “HELNET STI UMNIK” # 39778 “Development of predictive test system for personalized early risk assessment of gastric cancer” 2018–2020, “Fund for Assistance of Innovations”.

Этическая экспертиза. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ОмГМУ.

Ethics approval The study was approved by the local ethics committee of the Omsk State Medical University.

Информированное согласие. Во всех случаях было получено информированное согласие пациентов на проведение молекулярно-генетического исследования.

Informed consent In all cases, informed consent was obtained from the patients for the molecular genetic study.

Статья поступила в редакцию 15.02.2023; одобрена после рецензирования 10.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 15.02.2023; approved after reviewing 10.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКА CDX2 В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ МЕТОДОМ РАСЧЕТА ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ИНДЕКСА И ЕГО ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ

М.Н. Парыгина¹, С.И. Мозговой², А.Г. Шиманская³, В.А. Рубцов⁴, И.А. Остроглядова⁵,
А.В. Кононов⁶

Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

¹ mariyakern@gmail.com, ORCID 0000-0001-8006-3260

² simozgovoy@yandex.ru, ORCID 0000-0001-7200-7082

³ shimanskaya.anna@yandex.ru, ORCID 0000-0003-0949-8709

⁴ rubtsov.omgmu@mail.ru, ORCID 0000-0003-1834-3629

⁵ i_ostr@rambler.ru, ORCID 0000-0003-2184-3819

⁶ ogmapath@mail.ru, ORCID 0000-0001-8607-7831

Аннотация

Введение. Косвенным методом оценки экспрессии гена Cdx2, маркера кишечной дифференцировки эпителия и онкосупрессора, является иммуногистохимическое определение его продукта – белка CDX2, единый подход к которому не выработан. Предложен полуколичественный индекс CDX2, учитывающей процент CDX2-позитивных клеток в исследуемом фрагменте ткани, интенсивность ядерного окрашивания и паттерн экспрессии. **Цель исследования** – оценка воспроизводимости методики расчета полуколичественного индекса CDX2 при I-IV стадиях хронического атрофического гастрита. Материалы и методы. 20 случаев хронического атрофического гастрита (по 5 случаев стадий I–IV по системе Operative link for gastritis assessment), взятых в соответствии с протоколом Маастрихт V и исследованных иммуногистохимическим методом (CDX2, клон EPR2764Y, готовые к использованию). Оценку воспроизводимости полуколичественного индекса CDX2 проводили пять врачей-патологоанатомов. Согласованность их диагностических заключений определяли двухэтапно методами каппа-статистики. **Результаты.** При расчете полуколичественного индекса белка CDX2 значение невзвешенного κ -коэффициента равно 0,8, значение κ Коэна, рассчитанной методом квадратичного взвешивания, равно 0,97 (крайне высокий уровень согласия). **Обсуждение.** Наименее воспроизводимым параметром, используемым при расчете полуколичественного индекса CDX2, является протяженность экспрессии (процент CDX2-позитивных клеток), что связано с субъективным характером его исчисления. Близкие числовые значения полуколичественного индекса CDX2, рассчитанные врачами-патологоанатомами, объясняют более высокий уровень диагностического согласия, определенного методом квадратичного взвешивания. **Заключение.** Полуколичественный индекс оценки CDX2 обладает высоким уровнем воспроизводимости и может применяться для ранжирования его экспрессии.

Ключевые слова: экспертная оценка, каппа-статистика, CDX2, атрофия слизистой оболочки желудка

Для цитирования: Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Шиманская А.Г. с соавт. Оценка распределения белка CDX2 в слизистой оболочке желудка при хроническом гастрите методом расчета полуколичественного индекса и его воспроизводимости. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):49-55. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-49-55>.

© Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Шиманская А.Г., Рубцов В.А., Остроглядова И.А., Кононов А.В., 2023

© Parygina M.N., Mozgovoi S.I., Shimanskaya A.G., Rubtsov V.A., Ostroglyadova I.A., Kononov A.V., 2023

EVALUATION OF THE CDX2 PROTEIN DISTRIBUTION IN THE GASTRIC MUCOSA IN CHRONIC GASTRITIS BY A SEMI-QUANTITATIVE INDEX AND ITS REPRODUCIBILITY

M.N. Parygina¹, S.I. Mozgovoi², A.G. Shimanskaya³, V.A. Rubtsov⁴, I.A. Ostroglyadova⁵, A.V. Kononov⁶

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

¹ mariyakern@gmail.com, ORCID 0000-0001-8006-3260

² simozgovoy@yandex.ru, ORCID 0000-0001-7200-7082

³ shimanskaya.anna@yandex.ru, ORCID 0000-0003-0949-8709

⁴ rubtsov.omgmu@mail.ru, ORCID 0000-0003-1834-3629

⁵ i_ostr@rambler.ru, ORCID 0000-0003-2184-3819

⁶ ogmapath@mail.ru, ORCID 0000-0001-8607-7831

Abstract

Introduction The Cdx2 gene provides an intestinal differentiation of epithelial cells and plays an oncosuppressive role. An indirect method of the Cdx2 gene expression assessment is the immunohistochemical study of its product, the CDX2 protein. Therefore, the common approach to the immunohistochemical study of the CDX2 protein hasn't been developed yet. A semi-quantitative CDX2 index based on the percentage of CDX2-positive cells in the tissue specimen, the staining intensity and an expression pattern has been proposed. **The purpose of the study** was to assess the reproducibility of the semi-quantitative CDX2 index calculation in chronic atrophic gastritis stages I-IV. **Materials and methods** 20 chronic atrophic gastritis cases (5 cases for each stage of the gastritis according to the Operative link for gastritis assessment system) were taken according to the Maastricht V protocol and examined by the immunohistochemical method (CDX2, clone EPR2764Y, ready to use). The reproducibility of the CDX2 semi-quantitative index was assessed by five pathologists. An agreement between observed raters was measured by the kappa statistics. **Results** The Cohen's κ value is 0,8 for unweighted κ and 0,97 for weighted κ (extremely high level of agreement) for the semi-quantitative CDX2 index calculation. **Discussion** The least reproducible parameter used for the semi-quantitative CDX2 index calculation the percentage of CDX2-positive cells because of the subjective assessment. The Cohen's weighted κ value was higher compared to the unweighted κ because of the close yet not similar CDX2 semi-quantitative index values calculated by pathologists. **Conclusion** The semi-quantitative CDX2 index can be used to rank CDX2 expression and has a high level of reproducibility.

Keywords: peer review, kappa statistics, CDX2, gastric mucosal atrophy

For citation:

Parygina MN, Mozgovoi SI, Shimanskaya AG et al. Evaluation of the CDX2 protein distribution in the gastric mucosa in chronic gastritis by a semi-quantitative index and its reproducibility. Ural medical journal 2023;22(2):49-55. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-49-55>

ВВЕДЕНИЕ

Ген Cdx2, более всего известный как определяющий кишечную дифференцировку клеток эпителия, обладает сложными плеiotропными эффектами. В частности, он способен влиять на миграцию клеток и модифицировать молекулы адгезии, опосредующие процессы взаимодействия клеток с другими клетками и субстратом: E-кадгерин, LI-кадгерин, Mucdhl, клаудин 2, APC, α -актинин [1, 2]. Продукт экспрессии гена, транскрипционный фактор CDX2, способен тормозить деление клеток за счет связывания с богатыми тиминном и аденином участками ДНК, индукции генов-супрессоров клеточной пролиферации [3].

Участие Cdx2 в процессах клеточного деления и дифференцировки позволяет рассматривать его как онкосупрессор. Снижение и исчезновение экспрессии Cdx2 ассоциировано с неблагоприятным

прогнозом при колоректальном раке; ее появление в слизистой оболочке желудка определяет наличие метапластической атрофии (кишечной метаплазии) и маркирует предраковое изменение слизистой оболочки, предшествующее формированию интраэпителиальной неоплазии/дисплазии и аденокарциномы – рака желудка кишечного типа [3–7].

Онкосупрессивная роль Cdx2 объясняет важность детекции продукта его экспрессии в тканях. Единый подход его иммуногистохимического определения не выработан. Распространена бинарная оценка, при которой как наличие экспрессии рассматривается диффузное окрашивание ядер эпителиоцитов [8, 9]. Наряду с ней существуют варианты балльной полуколичественной оценки CDX2, как правило, учитывающие процент клеток, экспрессирующих Cdx2, и/или интенсив-

ность окрашивания ядер; полученные показатели суммируются [10–13]. Градация указанных признаков отличается в работах разных авторов. Такой подход предполагает грубое ранжирование экспрессии CDX2 и не учитывает возможности неравномерной экспрессии в пределах исследуемого объема диагностического материала.

Для преодоления указанных недостатков был разработан способ полуколичественной оценки иммуногистохимической окраски белка CDX2, учитывающей процент CDX2-позитивных клеток в исследуемом фрагменте ткани, интенсивность ядерного окрашивания и паттерн экспрессии [14].

Цель исследования – оценка воспроизводимости методики расчета полуколичественного индекса CDX2 при I–IV стадиях хронического атрофического гастрита.

Статья подготовлена на основе диссертационного исследования одного из авторов «Маркерный принцип верификации атрофии слизистой оболочки желудка в биопсийной диагностике хронического гастрита» (защита в 2022 году на базе диссертационного совета 21.2.048.03 при ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано 20 диагностических наблюдений хронического атрофического гастрита с наличием в биоптатах абсолютной и метапластической атрофии (по 5 случаев стадий I–IV по системе Operative link for gastritis assessment (OLGA)).

Для получения материалов диагностических гастробиопсий при эзофагогастродуоденоскопии использовали протокол Маастрихт V: два фрагмента слизистой оболочки желудка антрального отдела на расстоянии 2 см от привратника по малой и большой кривизне, один фрагмент слизистой оболочки угла желудка, два фрагмента слизистой оболочки тела желудка на расстоянии 8 см от розетки кардии по малой и большой кривизне [15].

Ориентировку полученных фрагментов слизистой оболочки желудка проводили с использованием специализированной ориентационной адгезивной полоски из ацетата целлюлозы [16, 17]. Биоптаты помещали мышечной пластинкой или фовеолярной зоной на адгезивную полоску при помощи форцепта эндоскопа, расправляли на ней, а затем погружали в емкость с фиксирующей жидкостью. При гистологическом исследовании как оптимально ориентированные расценивали фрагменты слизистой оболочки желудка, включающие как желудочные валики, так и донные отделы желез и мышечную пластинку и позволяющие получить перпендикулярные поверхности слизистой

оболочки срезы.

Пробоподготовку проводили по стандартной методике. Биопсийный материал фиксировали в течение 12–24 часов в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (фосфатный буфер pH=7,2–7,4), обезвоживали в абсолютном изопропиловом спирте и пропитывали парафином в гистологическом аппарате карусельного типа STP-120 (Microm, Германия). Заливку гастробиоптатов в парафин осуществляли по общепринятой методике с использованием модульной станции EC-350-1 (Microm, Германия). При заливке биоптатов адгезивную полоску ориентировали перпендикулярно поверхности среза. Далее с использованием метода tissue microarray и модифицированной методики для одновременного изучения большого числа фрагментов ткани формировали мультиблоки [18–20]. В каждый мультиблок помещали 25 фрагментов слизистой оболочки желудка и внешний контроль. С полученных мультиблоков изготавливали срезы толщиной 3–5 мкм с использованием ротационных микротомов-полуавтоматов HM-335 и HM-340E (Microm, Германия).

Наличие и градацию атрофии слизистой оболочки желудка в пределах биоптата оценивали в соответствии с критериями Модифицированной Сиднейской системы [21]. Стадию хронического гастрита определяли согласно визуально-аналоговой шкале Российского пересмотра Международной классификации хронического гастрита OLGA [22].

Для иммуногистохимического исследования использовали маркер CDX2, клон EPR2764Y, готовые к использованию (Cell Marque, США), что согласуется с международными рекомендациями NordiQC [23]. Демаскировку антигенов проводили в цитратном буфере (pH=9,0) при кипячении на водяной бане в течение 1 часа. Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера в течение 30 секунд – 2 минут. CDX2-позитивные метки характеризовались диффузным ядерным окрашиванием. Внешним положительным контролем были выбраны фрагменты ткани поджелудочной железы с наличием протоков, в ядрах эпителия которых регистрировали слабое диффузное окрашивание.

Для оценки и ранжирования экспрессии CDX2 использовали разработанный полуколичественный индекс [14]. Оценку индекса экспрессии CDX2 проводили по формуле:

Индекс экспрессии CDX2 = ПЭ + ПМ × ИМ,

где ПЭ – паттерн экспрессии;

ПМ – протяженность метки (процент CDX2-позитивных клеток в исследуемом объеме материала);

ИМ – интенсивность метки (таблица 1).

Критерии определения градации параметров, используемых при расчете индекса полуколичественной иммуногистохимической оценки белка CDX2

Оцениваемый параметр	Критерии оценки	Значение балла
Паттерн экспрессии	Отсутствие метки	0
	Разрозненные позитивно окрашенные клетки (до трех рядом расположенных клеток)	1
	Очаговая экспрессия более чем в трех рядом расположенных клетках, но не во всех клетках железы	2
	Линейная сплошная экспрессия во всей железе и соответствующей ей зоне покровно-ямочного эпителия	3
Протяженность метки	Отсутствие метки (0%)	0
	Очаговая экспрессия (1-5%)	1
	Фокальная экспрессия (5-25%)	2
	Мультифокальная экспрессия (25-50%)	3
	Распространенная экспрессия (50-100%)	4
Интенсивность метки	Отсутствие метки	0
	Слабая интенсивность, соответствующая светло-коричневому окрашиванию ядра	1
	Выраженная интенсивность, соответствующая темно-коричневому окрашиванию ядра	2

Оценку согласия врачей-патологоанатомов проводили путем расчета невзвешенного и взвешенного (линейное и квадратичное взвешивание) каппа-коэффициента (κ) Козна (попарного сопоставления мнений «каждый с каждым») с формированием генерального показателя согласия (медианы от полученных индивидуальных показателей). Значения каппа-коэффициента ранжировали: менее 0,2 – плохое согласие, плохая степень согласованности; от 0,21 до 0,4 – удовлетворительное (сносное) согласие, удовлетворительная степень согласованности; от 0,41 до 0,6 – умеренное (среднее) согласие, умеренная степень согласованности; от 0,61 до 0,8 – хорошее согласие, хорошая степень согласованности; более 0,81 – очень хорошее (значительное) согласие, очень хорошая степень согласованности [24, 25].

В исследовании приняло участие пять врачей-патологоанатомов «общего профиля», не специализирующихся на диагностике патологии желудочно-кишечного тракта (частота просмотра гастробиоптатов – 5–10 случаев в неделю) со стажем 3, 5, 10, 12 и 15 лет. Для расчета полуколичественного индекса белка CDX2 врачам предоставляли серию микрофотографий, сделанных с использованием различных увеличений ($\times 40$, $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$) с помощью микроскопа AxioSkop40 и камеры AxioCam MRc5 («Carl Zeiss», Германия).

Оценка межисследовательского согласия проходила в два этапа: на первом этапе врачи оценивали протяженность и интенсивность иммуногистохимической метки CDX2 и паттерн его экспрессии и рассчитывали полуколичественный индекс белка CDX2. Целью второго этапа служило повторное определение указанных выше параметров. Для минимизации вероятности механического воспроизведения данного ранее заключения этапы проводили с интервалом в две недели, а диагностические наблюдения ремаркировали с рандомизированным присвоением им новых порядковых

номеров.

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 107 от 2 октября 2018 года).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Диффузная ядерная экспрессия CDX2 определялась в ядрах всех эпителиоцитов в участках кишечной метаплазии. Ее интенсивность различалась от 1 в очагах неполной кишечной метаплазии (типы II и III) до 2 в очагах полной кишечной метаплазии (тип I). Единичные CDX2-позитивные ядерные метки низкой интенсивности (1 балл) определялись за пределами участков кишечной метаплазии в желудочном эпителии, преимущественно – в зоне перешейка желез и покровно-ямочном эпителии (рис. 1). При формировании серии срезов в таких участках в 75% биоптатов была обнаружена очаговая полная (тип I) кишечная метаплазия. Индекс CDX2 в биоптатах слизистой оболочки желудка принимал значения от 0 до 11 (среднее значение – 2,5 ($se=0,12$, $Sd=3,3$, $D=11$)).

На первом этапе исследования рассчитаны значения невзвешенного каппа-коэффициента, равные 0,33 (для протяженности экспрессии – процента позитивно окрашенных клеток в биоптате), 0,37 (для паттерна экспрессии) и 0,47 (для интенсивности экспрессии), что указывает на умеренный уровень согласия врачей-участников работы.

При расчете каппа-коэффициента методом линейного и квадратичного взвешивания получены значения 0,53 и 0,6 соответственно (для интенсивности экспрессии), 0,53 и 0,7 (для процента позитивно окрашенных клеток в биоптате) и 0,55 и 0,7 (для паттерна экспрессии). Все значения κ Козна, полученные методом линейного взвешивания, демонстрируют умеренную согласованность заключений, полученные методом квадратичного взвешивания – хорошую.

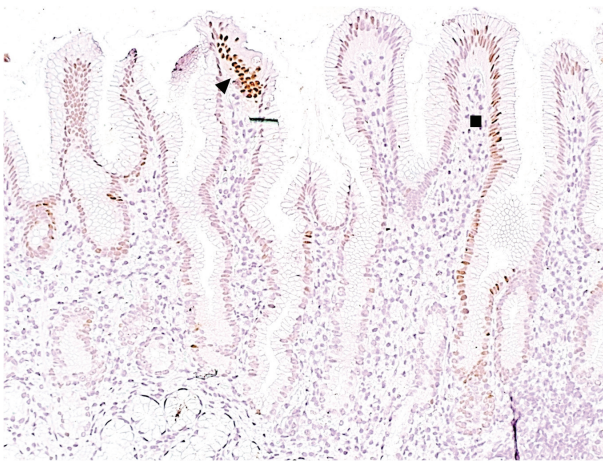


Рис. 1. Биоптат слизистой оболочки антрального отдела желудка с наличием очаговой кишечной метаплазии. Очаговая выраженная экспрессия CDX2 (2 балла) в фокусе метаплазированного эпителия (указано стрелкой ►), очаговая слабая экспрессия (1 балл) в ядрах клеток покровно-ямочного эпителия желудка (указано квадратом ■) (окраска – иммуногистохимический метод; $\times 200$)

При оценке уровня согласия врачей-участников исследования при расчете полуколичественного индекса белка CDX2 значение невзвешенного каппа-коэффициента составило 0,27 (удовлетворительное (сносное) согласие); тем не менее, при оценке того же показателя путем расчета к Коэна методом квадратичного взвешивания значение коэффициента составило 0,8 (крайне высокая степень согласованности заключений).

На втором этапе исследования значения показателей согласия определили повторно. Все полученные значения невзвешенного каппа-коэффициента, равные 0,84 (для паттерна экспрессии), 0,87 (для интенсивности экспрессии) и 0,88 (для протяженности экспрессии), указывают на крайне высокий уровень согласия врачей-участников исследования.

При расчете каппа-коэффициента методом линейного и квадратичного взвешивания получены значения 0,89 и 0,9 соответственно (для интенсивности экспрессии), 0,89 и 0,94 (для паттерна экспрессии) и 0,93 и 0,97 (для процента CDX2-позитивных клеток), также свидетельствующие в пользу крайне высокой степени согласия экспертов.

При оценке согласованности диагностических заключений при расчете полуколичественного индекса белка CDX2 получено значение невзвешенного к-коэффициента, равное 0,8 и значение к Коэна, рассчитанной методом квадратичного взвешивания, равное 0,97 (оба числовых показателя соответствуют крайне высокому уровню согласия).

ОБСУЖДЕНИЕ

Разница значений каппа-коэффициента, полученных на первом и втором этапах исследования при оценке паттерна, интенсивности и протяжен-

ности экспрессии CDX2 и его полуколичественного индекса, преимущественно связана с организацией работы врачей-участников. На первом этапе оценки каждого из параметров экспрессии и расчет на их основе индекса CDX2 проводили в соответствии с текстовой инструкцией, не содержащей примеров выполнения задания, что провоцировало максимально возможный уровень несовпадения мнений. По завершении этапа проводили обсуждение его результатов с разъяснением процедуры ранжирования каждого из параметров и демонстрацией трех диагностических наблюдений хронического атрофического гастрита, сходных с предложенными для самостоятельной оценки.

Среди параметров, используемых для расчета полуколичественного индекса CDX2, наибольшие затруднения возникали с оценкой протяженности экспрессии (процента CDX2-позитивных клеток). Данная проблема связана с трудоемкостью точного подсчета меток в пределах биоптата и, соответственно, субъективным характером их исчисления и может быть решена обсуждением нескольких «эталонных» случаев для унификации диагностических суждений.

Сложности ранжирования паттерна экспрессии преимущественно возникали при оценке диагностических наблюдений с наличием протяженных участков кишечной метаплазии с линейной сплошной экспрессией CDX2, затрагивающей покровно-ямочный эпителий, но не донные отделы желез. Частью участников работы такие случаи были интерпретированы как относящиеся к градации 3 (линейная сплошная экспрессия во всей железе и соответствующей ей зоне покровно-ямочного эпителия), что вело к завышению градации показателя.

Источником несогласованности мнений врачей, участвующих в исследовании, являлись также наблюдения, где хотя бы один из расчетных параметров индекса CDX2 присутствовал в двух градациях; например, в пределах одного гастробиоптата в примерно равных соотношениях встречались CDX2-позитивные метки слабой и выраженной интенсивности.

Обращает на себя внимание резкое увеличение уровня межисследовательского согласия при расчете полуколичественного индекса белка CDX2 на первом этапе работы при использовании метода квадратичного взвешивания каппа-коэффициента. Указанная разница значений возникает в силу особенностей статистической обработки данных: при расчете невзвешенной к Коэна совпадения индекса учитываются фактически (значение полностью совпало/значение не совпало); взвешенная же к Коэна учитывает также близость указанных участниками исследования значений. Таким образом, значительно возросшая согласованность мнений связана с тем, что врачи-патологоанатомы выносили сходные, хотя и не тождественные суждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Белок CDX2 при его детекции иммуногистохимическим методом является хорошо распознаваемым маркером кишечной дифференцировки эпителиоцитов. Полуколичественный индекс

оценки, рассчитанный на основании паттерна иммуногистохимической окраски, ее протяженности и интенсивности, обладает высоким уровнем воспроизводимости и может применяться для ранжирования экспрессии CDX2.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Coskun M, Boyd M, Olsen J, Troelsen JT. Control of intestinal promoter activity of the cellular migratory regulator gene ELMO3 by CDX2 and SP1. *J Cell Biochem* 2010;109(6):1118–1128. <http://doi.org/10.1002/jcb.22490>.
2. Freund JN, Duluc I, Reimund JM. et al. Extending the functions of the homeotic transcription factor Cdx2 in the digestive system through nontranscriptional activities. *World J Gastroenterol* 2015;21(5):1436–1443. <http://doi.org/10.3748/wjg.v21.i5.1436>.
3. Dang DT, Mahatan CS, Dang LH et al. Expression of the gut-enriched Krüppel-like factor (Krüppel-like factor 4) gene in the human colon cancer cell line RKO is dependent on CDX2. *Oncogene* 2001;20(35):4884–4890. <http://doi.org/10.1038/sj.onc.1204645>.
4. Asgari-Karchekani S, Karimian M, Mazoochi T et al. CDX2 protein expression in colorectal cancer and its correlation with clinical and pathological characteristics, prognosis, and survival rate of patients. *J Gastrointest Cancer* 2020;51(3):844–849. <http://doi.org/10.1007/s12029-019-00314-w>.
5. Liu Q, Teh M, Ito K et al. CDX2 expression is progressively decreased in human gastric intestinal metaplasia, dysplasia and cancer. *Mod Pathol* 2007;20(12):1286–1297. doi:10.1038/modpathol.3800968.
6. Slik K, Turkki R, Carpén O et al. CDX2 loss with microsatellite stable phenotype predicts poor clinical outcome in stage II colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2019;43(11):1473–1482. <http://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001356>.
7. Yu J, Li S, Xu Z et al. CDX2 inhibits epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer by modulation of Snail expression and β -catenin stabilisation via transactivation of PTEN expression. *Br J Cancer* 2021;124(1):270–280. <http://doi.org/10.1038/s41416-020-01148-1>.
8. Bellizzi AM. Immunohistochemistry in the diagnosis and classification of neuroendocrine neoplasms: what can brown do for you? *Hum Pathol* 2020;96:8–33. <http://doi.org/10.1016/j.humphath.2019.12.002>.
9. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S et al. Assessment of mismatch repair deficiency, CDX2, beta-catenin and E-cadherin expression in colon cancer: molecular characteristics and impact on prognosis and survival – an immunohistochemical study. *Rom J Morphol Embryol* 2020;61(3):715–727. <http://doi.org/10.47162/RJME.61.3.10>.
10. Azcue P, Guerrero Setas D, Encío I et al. A novel prognostic biomarker panel for early-stage colon carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13(23):5909. Published 2021 Nov 24. <http://doi.org/10.3390/cancers13235909>.
11. Konukiewicz B, Schmitt M, Silva M et al. Loss of CDX2 in colorectal cancer is associated with histopathologic subtypes and microsatellite instability but is prognostically inferior to hematoxylin-eosin-based morphologic parameters from the WHO classification. *Br J Cancer* 2021;125(12):1632–1646. <http://doi.org/10.1038/s41416-021-01553-0>.
12. Mangi FH, Shaikh TA, Soria D et al. Novel molecular classification of colorectal cancer and correlation with survival. *Saudi J Biol Sci* 2022;29(5):3929–3936. <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.014>.
13. Yu JH, Zheng JB, Qi J et al. Bile acids promote gastric intestinal metaplasia by upregulating CDX2 and MUC2 expression via the FXR/NF- κ B signalling pathway. *Int J Oncol* 2019;54(3):879–892. <http://doi.org/10.3892/ijo.2019.4692>.
14. Способ визуальной полуколичественной оценки экспрессии белка CDX-2 в тканях иммуногистохимическим методом: пат. 2758888 Рос. Федерация, № 2020143364; заявл. 28.12.2020; опубл. 02.11.2021. Method for visual semi-quantitative evaluation of CDX-2 protein expression in tissues by immunohistochemical method: pat. 2758888 Russian Federation, № 2020143364; appl. 28.12.2020; publ. 02.11.2021. (In Russ.).
15. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA et al. Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 2017;66(1):6–30. <http://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312288>.
16. Адгезивная подложка для ориентировки биопсийного материала слизистой оболочки желудка: пат. 188389 Рос. Федерация, № 2018140444; заявл. 15.11.2018; опубл. 09.04.2019. Adhesive substrate for orientation of the biopsy material of the gastric mucosa: pat. 188389 Russian Federation, № 2018140444; appl. 15.11.2018; publ. 09.04.2019. (In Russ.).
17. Парыгина М.Н., Поморгайло Е.Г., Шиманская А.Г. с соавт. Сравнительная оценка способов ориентировки биопсийного материала слизистой оболочки желудка. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание 2020;14(1):151–156. <http://doi.org/10.24411/2075-4094-2020-16588>. Parygina MN, Pomorgailo EG, Shimanskaya AG et al. A comparative assessment of technics for the orientation of gastric biopsy samples. *Journal of new medical technologies. eEdition* 2020;14(1):151–156. (In Russ.). <http://doi.org/10.24411/2075-4094-2020-16588>.
18. Способ формирования тканевых матриц для гистологического исследования: пат. 2711621 Рос. Федерация, № 2018108688; заявл. 13.13.2018; опубл. 17.01.2020. Method of forming tissue matrices for histological examination: pat. 2711621 Russian Federation, № 2018108688; appl. 13.13.2018; publ. 17.01.2020. (In Russ.).
19. Методика формирования тканевых матриц с использованием адгезивной подложки: свидетельство № 2020621879; заявл. 05.10.2020; опубл. 14.10.2020. Technique for the formation of tissue matrices using an adhesive substrate: reg. cert. № 2020621879; appl. 05.10.2020; publ. 14.10.2020. (In Russ.).
20. Koo M, Squires JM, Ying D, Huang J. Making a tissue microarray. *Methods Mol Biol* 2019;1897:313–323. http://doi.org/10.1007/978-1-4939-9888-8_14.

org/10.1007/978-1-4939-8935-5_27.

21. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20(10):1161–1181. <http://doi.org/10.1097/00000478-199610000-00001>.

22. Кононов А.В., Мозговой С.И., Шиманская А.Г. с соавт. Российский пересмотр классификации хронического гастрита: воспроизводимость оценки патоморфологической картины. Архив патологии. 2011;4(73): 52–56. Kononov AV, Mozgovoi SI, Shimanskaya AG et al. The russian revision of chronic gastritis classification: reproducibility of the pathomorphologic picture. *Arkhiv patologii* 2011;4(73): 52–56. (In Russ.).

23. Assessment run 48, CDX2. Nordic Immunohistochemical Quality Control. 2016:1-7. URL: https://www.nordiqc.org/downloads/assessments/83_39.pdf (Date of application: 01.01.2023).

24. Kadivar M, Aram F. Assessment of Ki67 in breast cancer: a comparison between the eye-10 method, stepwise counting strategy, and international system of Ki67 evaluation. *Iran J Pathol* 2020;15(1):13–18. <http://doi.org/10.30699/IJP.2019.102290.2017>.

25. Carpentier M, Combescurie C, Merlini L, Perneger TV. Kappa statistic to measure agreement beyond chance in free-response assessments. *BMC Med Res Methodol* 2017;17(1):62. <http://doi.org/10.1186/s12874-017-0340-6>.

Сведения об авторах:

Мария Николаевна Парыгина – кандидат медицинских наук;

Сергей Игоревич Мозговой – доктор медицинских наук, доцент;

Анна Геннадьевна Шиманская – кандидат медицинских наук, доцент;

Вячеслав Александрович Рубцов – кандидат медицинских наук;

Ирина Алексеевна Остроглядова – ассистент кафедры;

Алексей Владимирович Кононов – доктор медицинских наук, профессор.

Information about authors:

Marija N. Parygina – Ph.D. in medicine;

Sergej I. Mozgovoi – Doctor of Science (Medicine), Associate Professor;

Anna G. Shimanskaya – Ph.D. in medicine, Associate Professor;

Vjacheslav A. Rubtsov – Ph.D. in medicine;

Irina A. Ostrogladova – Department assistant;

Aleksej V. Kononov – Doctor of Science (Medicine), Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ОмГМУ.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of the Omsk State Medical University.

Информированное согласие. Во всех случаях было получено информированное согласие пациентов.

Informed consent In all cases, informed consent was obtained from the patients.

Статья поступила в редакцию 17.01.2023; одобрена после рецензирования 14.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 17.01.2023; approved after reviewing 14.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАКРОФАГАЛЬНОЙ ВАСКУЛОПОДОБНОЙ МИМИКРИИ В ОЦЕНКЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

А.Ю. Шаманова¹, Е.Л. Казачков², И.Е. Панова³, В.В. Саевец⁴, Л.В. Ярина⁵, Т.Н. Шамаева⁶, В.М. Власова⁷

^{1, 2, 4, 5, 6, 7} Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

^{1, 4, 5} Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины, Челябинск, Россия

³ СПб филиал НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, Санкт-Петербург, Россия

¹ anna-sha@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9280-0608>

² doctorkel@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ eyeren@mail.ru

⁴ lalili2013@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2572-2408>

⁵ yarina.lubov98@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5162-525X>

⁶ shamtan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6327-2685>

⁷ vvlasova02@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5550-4466>

Аннотация

Введение. Увеальная меланома (УМ) – злокачественное новообразование сосудистого тракта глаза, склонное к гематогенному метастазированию вне зависимости от вида проведенного лечения. Прогнозирование и предотвращение метастазирования УМ является одной из главных задач онкоофтальмологии. Описан альтернативный способ кровоснабжения опухоли за счет процесса васкулоподобной мимикрии (ВМ) с формированием псевдососудистых структур клетками опухоли. При этом участие микроокружения опухоли в процессах ВМ и метастазирования на сегодняшний день является дискуссионным и актуальным. **Цель работы** – оценить прогностическую роль макрофагальной васкулоподобной мимикрии в прогрессировании меланомы хориоидеи на основе гистологической и иммуногистохимической характеристики операционного материала. **Материалы и методы.** Исследован операционный материал меланомы хориоидеи после энуклеации за период 2013-2018 гг. Проведено гистологическое, гистохимическое (PAS-реакция) и иммуногистохимическое исследование с использованием маркеров CD68 (Macrophage), CD 34, CD31, D2-40 с целью качественной и количественной оценки макрофагов в строме опухоли, кровеносных сосудов и псевдососудов в опухоли. **Результаты.** Обнаружена и описана способность макрофагов к формированию васкулоподобных пространств в меланоме хориоидеи. В опухоли с метастазами статистически значимо больше представительство макрофагов, чем в тканевых образцах неметастазирующей меланомы. Между объемной плотностью сосудов и количеством макрофагов была зарегистрирована обратная средняя по силе корреляционная связь. В группе исследования с метастазами статистически значимо больше преобладает объемная плотность псевдососудистых пространств и количества макрофагов. **Обсуждение.** Макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль: противоопухолевую и проопухолевую. Описана способность макрофагов к васкулоподобной мимикрии в меланоме хориоидеи. Результаты нашего исследования подтверждают проопухолевую активность макрофагов и важную роль в метастазировании опухоли. **Заключение.** Углубленное исследование путей формирования псевдососудистых пространств не только клетками самой опухоли, но и её микроокружением, помогает открыть новые направления в исследовании предикторов метастазирования УМ и наметить подходы к разработке новых направлений противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, макрофагальная васкулоподобная мимикрия, макрофаги.

Для цитирования: Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Панова И.Е. с соавт. Прогностическое значение макрофагальной васкулоподобной мимикрии в оценке прогрессирования увеальной меланомы. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):56-64. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-56-64>.

**PROGNOSTIC VALUE OF MACROPHAGE VASCULIFORM MIMICRY
IN THE EVALUATION OF UVEAL MELANOMA PROGRESSION**

A.Y. Shamanova¹, E.L. Kazachkov², I.E. Panova³, V.V. Saevets⁴, L.V. Yarina⁵, T.N. Shamaeva⁶,
V.M. Vlasova⁷

^{1, 2, 4, 5, 6, 7} South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

^{1, 4, 5} Chelyabinsk regional clinical center of Oncology and nuclear medicine, Chelyabinsk, Russia

³ St. Petersburg branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, St. Petersburg, Russia

¹ anna-sha@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9280-0608>

² doctorkel@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ eyeren@mail.ru

⁴ lalili2013@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2572-2408>

⁵ yarina.lubov98@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5162-525X>

⁶ shamtan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6327-2685>

⁷ vvlasova02@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5550-4466>

Abstract

Introduction Uveal melanoma (UM) is a malignant neoplasm of the vascular tract of the eye, prone to hematogenous metastasis, regardless of the type of treatment performed. Prediction and probability of UM metastasis is one of the main tasks of onco-ophthalmology. We described an alternative method of tumor blood supply due to the process of vasculo-like mimicry (VM) with the formation of pseudovascular structures of tumor cells is described. At the same time, the participation of the microenvironment in the processes of VM and metastasis is currently debatable and relevant. **Purpose of the work** was to evaluate the prognostic role of macrophage vasculiform mimicry in the progression of choroid melanoma based on the histological and immunohistochemical characteristics of surgical material. **Materials and methods** The surgical material of choroidal melanoma after enucleation for the period 2013-2018 was studied. Histological, histochemical (PAS reaction) and immunohistochemical studies were carried out using markers CD68 (macrophages), CD 34, CD31, D2-40 for the purpose of qualitative and quantitative assessment of macrophages in the stroma of tumors, large vessels and pseudovessels in the tumor. **Results** The ability of macrophages to form vasculo-like spaces in choroidal melanoma has been discovered and described. In growth with macrometastases, more phage representatives are recorded than in tissue samples of non-metastasizing melanoma. the volume of the macroscopic mass of the ulcer and the growth rate of phages were registered as the inverse average in terms of the strength of the correlation. In group studies with metastases, an increase in the volume of pseudovascular volumes and the number of phages is recorded. **Discussion** The macrophage microenvironment in a tumor can play a dual role: antitumor and protumor. The ability of macrophages for VM in UM has been described. The results of our macrostudy confirm the protumor activity of phages and their important role in tumor metastasis. **Conclusion** In-depth study of the ways of pseudovascular space formation not only by the cells of the tumor itself, but also by its microenvironment, helps to open new directions in the study of predictors of UM metastasis and outline approaches to the development of new directions of anti-tumor therapy.

Key words: choroid melanoma, macrophage vasculature-like mimicry, macrophages.

For citation:

Shamanova AY, Kazachkov EL, Panova IE et al. Prognostic value of macrophage vasculiform mimicry in the evaluation of uveal melanoma progression. Ural medical journal 2023;22(2):56-64. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-56-64>

ВВЕДЕНИЕ

Уvealная меланома (УМ) – злокачественное новообразование сосудистого тракта глаза, к которому относятся радужная оболочка, цилиарное тело и хориоидея. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на долю меланомы радужной оболочки приходится 5%, на меланому

хориоидеи и цилиарного тела – 95% наблюдений УМ [1]. При этом половая предрасположенность к развитию УМ отсутствует [1].

На сегодняшний день предотвращение метастазирования УМ является одной из главных задач, решение которой позволит обеспечить увеличение показателей безрецидивной выживаемости

пациентов. Известно, что УМ метастазирует гематогенным путем наиболее часто в паренхиматозные органы (печень), реже – в легкие и кости [1]. При этом появление депозитов УМ возможно вне зависимости от вида проведенного лечения.

Прогнозирование отдаленных метастазов УМ и выживаемости пациентов во многом базируется на клинко-морфологических особенностях этого новообразования, анализ которых позволил обозначить факторы неблагоприятного прогноза УМ. К ним относят размер опухоли, экстрасклеральный рост, периневральная инвазия опухоли, вовлечение цилиарного тела. По мнению экспертов ВОЗ, особенности ангиогенеза и характеристики сосудистой сети являются важными прогностическими факторами при УМ [1]. Ранее показано, что различные васкулярные паттерны в опухоли и обильная васкуляризация ассоциированы с повышенным риском метастазирования [2, 3]. При этом установлено, что высокая микроваскулярная плотность в УМ ассоциируется с низкими показателями выживаемости [4–6].

Ангиогенез является важнейшим фактором, обуславливающим рост и метастазирование опухоли, поскольку позволяет обеспечить новообразование кислородом и питательными веществами. В ходе ангиогенеза ряд проангиогенных факторов (фактор роста эндотелия сосудов, VEGF и пр.) секретируются опухолевыми клетками для индуцирования собственной васкуляризации через процесс активации уже существующего эндотелия организма-опухоленосителя.

Вместе с тем показано, что ключевым альтернативным механизмом васкуляризации опухоли является васкулоподобная мимикрия (ВМ), при которой новообразования создают особую систему кровоснабжения, индуцируемую дефицитом кислорода и питательных веществ [7–9]. Данный механизм аутоваскуляризации опухоли тесно связан с прогрессированием заболевания и негативным прогнозом, в частности, при злокачественных опухолях эпителиального генеза (при карциномах яичников, молочной железы, мелкоклеточном раке легкого) [10–12]. Отмечено, что сами клетки УМ склонны к ВМ и формированию пространств, подобных сосудам, по которым возможно распространение клеток опухоли с формированием метастазов [13]. A.J. Maniotis et al. описали псевдососудистые каналы при высокоагрессивных УМ, образованные клетками опухоли, и обозначили этот феномен васкулогенной мимикрией [14].

Последние десятилетия активно изучается вопрос влияния клеточного микроокружения на рост и метастазирование опухолей различных локализаций (карциномы почки, яичника, толстой кишки, гортани) [15, 16]. M.M. Stei et al. описали факторы неблагоприятного прогноза УМ, к которым отнесли пожилой возраст пациентов, а также появление туморинфильтрирующих макрофагов (ТИМ) и вы-

сокую плотность кровеносных сосудов в опухоли [17]. При этом показано, что на прогрессирование опухоли могут влиять макрофаги популяции M2 и уровень экспрессии их цитокинов. Авторами установлено, что прогрессирование опухоли достоверно коррелирует с количеством макрофагов M2 *in vivo* и *in vitro* [17].

Некоторые авторы утверждают, что при УМ количество макрофагов, инфильтрирующих опухоль, влияет на прогноз, ассоциируется с типом клеток новообразования и плотностью микрососудов [18]. Большое количество макрофагов было связано с наличием эпителиоидных клеток ($p = 0,025$), выраженной пигментацией ($p = 0,001$) и высокой плотностью микрососудов ($p = 0,001$). При этом характер и тип ТИМ не был статистически значимо связан со смертностью [18]. Всё это диктует необходимость дальнейшего анализа биологической роли макрофагов при УМ.

На основании вышеизложенного уместно предположить, что сосудистая сеть в УМ, в том числе и псевдососудистые коммуникации, а также клеточные элементы микроокружения опухоли, в особенности макрофаги, способны оказывать влияние на усиление риска метастазирования. При этом данные об участии ТИМ в возможном созидании псевдососудистой сети опухоли встречаются в единичных исследованиях [19].

Цель исследования – оценить прогностическую значимость макрофагальной васкулоподобной мимикрии в прогрессировании увеальной меланомы на основе гистологической, гистохимической и иммуногистохимической характеристики операционного материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное морфологическое исследование 299 энуклеированных глаз от 299 пациентов, оперированных по поводу УМ в 2013–2018 гг. в Челябинском областном клиническом центре онкологии и ядерной медицины (ГАУЗ ЧОКЦО и ЯМ).

Критериями включения являлась верификация на операционном материале УМ после энуклеации глаза, наличие или отсутствие отдаленных метастазов опухоли, гистологически подтвержденная беспигментная или слабо пигментированная меланома. Критерии невключения: гистологически подтвержденная умеренно и выраженно пигментированная опухоль, какая-либо терапия, проведенная по поводу УМ, наличие второго злокачественного новообразования у пациента.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ в процессе гистологического исследования операционного материала все случаи УМ были разделены на эпителиоидные, веретеночлеточные и смешанные (эпителиоидно-веретеночлеточные) с оценкой процента веретеночлеточного компонента в новообразовании по отношению к общему объёму УМ

[1].

В соответствии с критериями включения и исключения были сформированы две группы исследования: в 1-ю группу вошли наблюдения УМ без отдаленных метастазов ($n=30$), во 2-ю группу – случаи оперированной УМ с верифицированными отдаленными метастазами (в печень) ($n=20$). Проведены гистологическое, гистохимическое и иммуногистохимическое исследование (ИГХ) тканевых образцов с антителами к CD68 (Macrophage) для идентификации макрофагального звена клеточного микроокружения УМ, маркеры к эндотелию кровеносных сосудов (CD 34, CD31) и к эндотелию лимфатических сосудов (D2-40). Гистохимическое исследование с применением ШИК-реакции было выполнено с целью выявления структурных компонентов псевдососудистых пространств в сочетании с интерпретацией экспрессии ИГХ-маркеров на ступенчатых гистологических срезах [20].

Анализ полученных данных проведен с использованием математико-статистической обработки результатов исследования, выполненной с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 19. Во всех случаях распределение признаков не соответствовало нормальному закону распределения. Количественные (интервальные) и порядковые (ординальные) показатели обрабатывались с использованием методов описательной статистики и представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3). Значимость различий по количественным и порядковым данным оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости 0,05. Достоверными считались различия $p < 0,05$. В случаях метастазирующих УМ проведено исследование корреляционных связей с оценкой показателя Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследовано 299 энуклеированных глаз от 299 пациентов (145 мужчин, 154 женщины, средний возраст 61 [52; 70]). На первом этапе группировки выборки были сформированы 2 группы. В 1-ю группу исследования вошли пациенты с УМ без отдаленных метастазов ($n=258$) (медиана времени наблюдения за больными с констатацией отсутствия отдаленных метастазов составила 57 [38;60] месяцев), 2-я группа включала верифицированные отдаленные метастазы УМ (в печень) ($n=24$) (медиана времени от момента верификации до появления метастазов - 42 [30;54] месяца).

На втором этапе группировки материала проведен отбор слабо пигментированных и беспигментных УМ с целью улучшения восприятия пероксида-ассоциированных меток ИГХ-маркёров. В итоге выборки 1-ю группу исследования сформировали 30 наблюдений УМ без отдаленных метастазов (16 мужчин, медиана возраста 51 [41; 59]; 14 женщин,

медиана возраста 54 [48; 71]), 2 группу – 20 случаев УМ (12 мужчин, медиана возраста 48 [38; 56]; 8 женщин, медиана возраста 52 [44; 68]). Следует отметить, что возраст пациентов исследуемых групп статистически значимо не отличался ($p=0,432$).

Во всех случаях верифицированы либо эпителиоидноклеточный либо веретенкоклеточный варианты УМ.

При исследовании микропрепаратов УМ методом световой микроскопии при обзорной окраске гематоксилином и эозином были обнаружены пространства в строме опухоли, которые были заполнены эритроцитами и напоминали кровеносные сосуды. Размеры обнаруженных пространств варьировали от нескольких до десятков мкм в поперечнике. Формы просветов этих псевдососудистых коммуникаций также варьировали: от узких овально-округлых либо извитых до широких неправильных. На серийных срезах в обзорной окраске гематоксилином и эозином данные пространства сохранялись, то есть не являлись артефициальными (рис. 1).

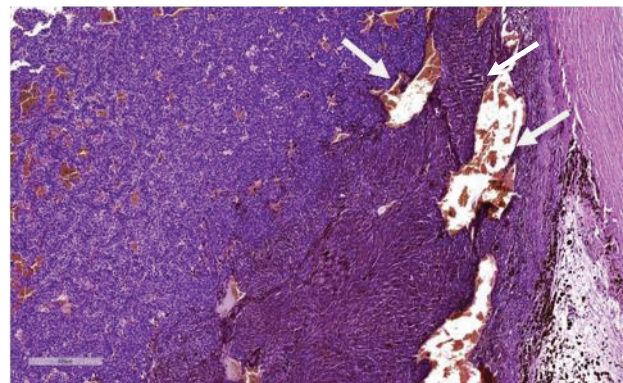
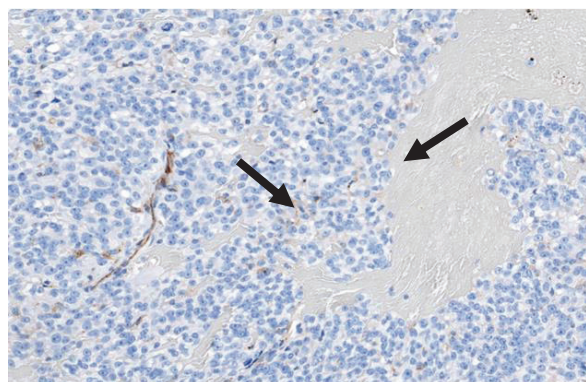


Рис. 1. Гистологическая картина увеальной меланомы с обильной васкуляризацией крупными, средними и мелкими просветами сосудов, заполненных эритроцитами. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 4,8$.

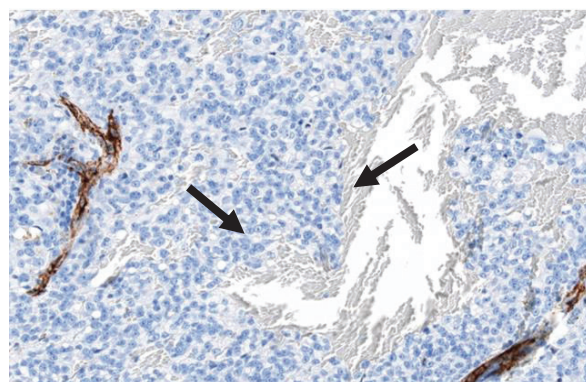
При ИГХ-исследовании микропрепаратов методом световой микроскопии был обнаружен феномен формирования макрофагами васкулоподобных пространств в строме УМ (рис. 2).

При окраске материала реактивом Шиффа (ШИК-реакция) в стенках псевдососудистых пространств в УМ идентифицировалась ШИК-позитивная субстанция, напоминающая сосудистую базальную мембрану (рис. 3).

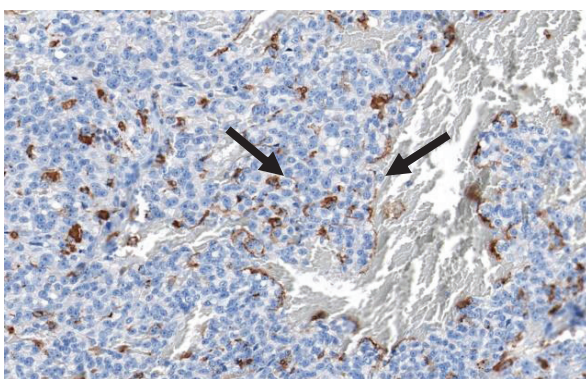
В ходе проведения морфометрического анализа материала установлено, что в опухолях пациентов 2-й группы исследования уровень представительства ТИМ был статистически значимо выше, чем в тканевых образцах неметастазирующей УМ (таблица 1): 204,3 [150,4; 248,3] против 115 [68,4; 142,3] во 2-й и 1-й группах соответственно ($p=0,006$). Кроме того, в тканевых срезах УМ боль-



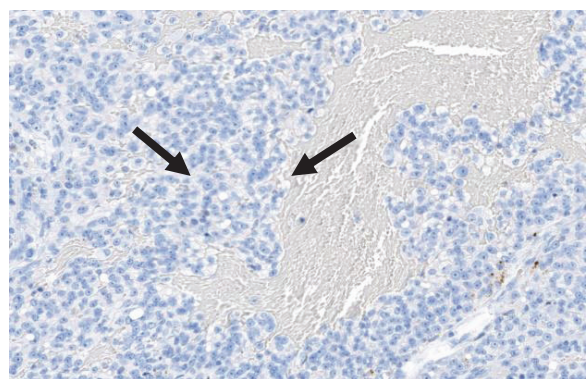
а



б



в



г

Рис. 2. Иммуногистохимическая характеристика истинных и псевдососудистых пространств в увеальной меланоме: а – CD34-положительная экспрессия эндотелиальными клетками капилляров в опухоли; б – CD31-метки в клетках эндотелия кровеносных сосудов новообразования; в – CD68(Macrophage)-положительные клетки, выстраивающиеся в ряд и формирующие псевдососудистые пространства (васкулоподобная мимикрия макрофагов); г – псевдососудистые пространства в опухоли, лишённые экспрессии D2-40 (отсутствие в регионе лимфатических капилляров). Окраска – иммуногистохимический метод, полимерная тест-система; а-г – $\times 200$.

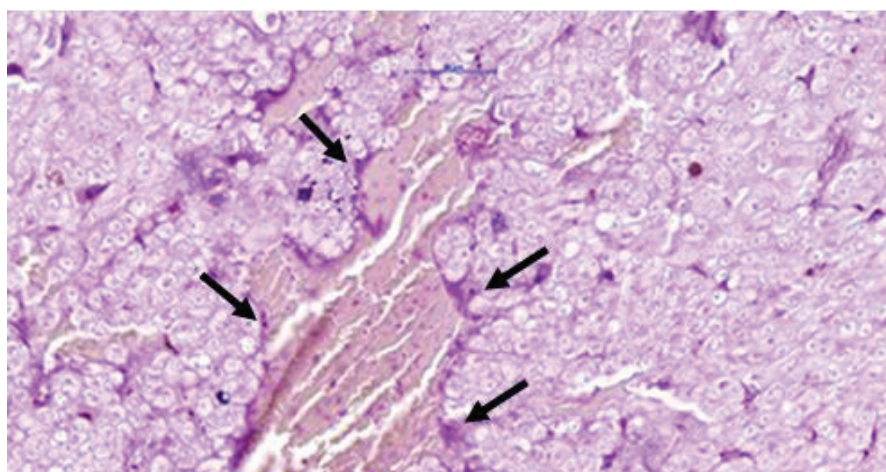


Рис. 3. ШИК-положительные элементы стенки псевдососудистых пространств. Псевдососудистое пространство в УМ с чётко определяемой мембраноподобной ШИК-положительной субстанцией, напоминающей базальную мембрану сосуда (указано стрелками). Окраска – ШИК-реакция, $\times 400$.

ных 2-й группы объёмная плотность псевдососудистых пространств, сформированных макрофагами, статистически значимо превышала одноимённый параметр в опухолях пациентов 1-й группы (7,1

[4,4; 9,2] против 3,3 [1,0; 4,0]) ($p=0,05$). Вместе с тем, при сравнении значений объёмной плотности истинных кровеносных сосудов установлено статистически значимое преобладание этого по-

казателя в неметастизирующих УМ (1-я группа) 5,0] против 6,4 [4,43; 7,6] соответственно ($p=0,05$) над аналогичным параметром 2-й группы (3,4 [2,3; 5,0] (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнительная характеристика объемной плотности кровеносных сосудов, псевдососудистых пространств и количества макрофагов в опухоли в зависимости от наличия (mts+) или отсутствия (mts-) отдаленных метастазов в печени

Оцениваемые параметры	Me (Q1%; Q3%)		p (критерий Манна-Уитни)
	1-я группа (mts-), n=30	2-я группа (mts+), n=20	
Кровеносные сосуды, объемная плотность (%)	6,4 (4,43; 7,6)	3,4 (2,3; 5,0)	=0,05
Макрофаги (количество клеток)	115(68,4; 142,3)	204,3 (150,4; 248,3)	=0,006
Псевдососудистые пространства, объемная плотность, %	3,3 (1,0; 4,0)	7,1 (4,4; 9,2)	=0,05

Между значениями объемной плотности кровеносных сосудов и количеством макрофагов нами зарегистрирована обратная средняя по силе корреляционная связь, означающая, что чем выше уровень объемной плотности сосудов в опухоли, тем статистически значимо меньше количество макрофагов в новообразовании

(табл. 2). При этом следует отметить, что в УМ преимущественно веретенноклеточного строения васкуляризация была более выражена, чем при эпителиоидноклеточном варианте опухоли, в то время как количество ТИМ, напротив, преобладало в УМ эпителиоидноклеточного строения.

Таблица 2.

Корреляционные связи (P_0 Спирмена) показателей объемной плотности кровеносных сосудов, количества макрофагов, % веретенноклеточного компонента в метастазирующей УМ

P_0 Спирмена	Кровеносные сосуды	Макрофаги (количество)	% веретенноклеточного компонента в опухоли
Кровеносные сосуды (объемная плотность)	-	-0,349, $p=0,04$	0,371, $p=0,02$
Макрофаги (количество)	-0,349, $p=0,04$	-	-0,600, $p=0,02$
% веретенноклеточного компонента в опухоли	0,371, $p=0,02$	-0,600, $p=0,02$	-

ОБСУЖДЕНИЕ

Макрофаги относятся к клеткам врожденной иммунной системы, формируют один из первых противомикробных барьеров, играют важную роль в заживлении ран при воспалении и ангиогенезе. Эти клетки представляют собой гетерогенную клеточную популяцию с различными фенотипическими характеристиками в зависимости от тканей, на территории которых они располагаются, и состояния системы их активации. Макрофаги играют важную защитную роль в различных тканях глаза (роговице, сосудистой оболочке), активно участвуя в противоопухолевых иммунных реакциях [17].

Ангиогенез является фундаментальным процессом, который обеспечивает опухоль кислородом и питанием, необходимыми для их роста [21–24]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторы (VEGFR) являются основными маркерами ангиогенеза опухоли. При этом VEGFR продуцируется как самими опухолевыми клетками, так их микроокружением, в частности, ТИМ, что приводит к повышению проницаемости сосудов и, вероятно, стимулирует процесс внедрения клеток опухоли в просветы периферических сосудов [25].

Ингибиторы VEGF и VEGFR широко используются для лечения солидных опухолей [26]. При этом показано, что антиангиогенная терапия не всегда приводит к искомым результатам. Это позволяет

предположить, что возможным механизмом резистентности к антиангиогенным препаратам может быть активация альтернативных путей неоваскуляризации опухоли [27–29].

Помимо VEGF, ТИМ высвобождает набор проангиогенных факторов, включающих фактор некроза опухоли α (TNF α), основной фактор роста фибробластов (bFGF), тимидинфосфорилазу (TP), активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), аденомедуллин (ADM) и семафорин 4D (Sema4D) [30, 31]. Участие ТИМ в опухолевом ангиогенезе не ограничивается самопродукцией ангиогенных факторов. Эти клетки способны экспрессировать цитокины, которые косвенно способствуют ангиогенезу опухоли путем индукции проангиогенной программы в опухолевых клетках. Так, установлено [32–33], что моноциты и макрофаги человека индуцируют продукцию проангиогенных факторов IL-8 и VEGF из клеток меланомы и глиомы во время совместного культивирования. ВМ при этом в основном присутствует в тканях высокозлокачественных опухолей и ассоциирована со способностью опухоли метастазировать, рецидивировать и, тем самым, влиять на прогноз течения страдания [34–35]. Показано, что появление ВМ трактуется как неблагоприятный прогностический фактор при карциноме яичников [10], глиобластоме [36].

Несмотря на то, что механизмы образования ВМ до сих пор полностью не раскрыты, указано

на участие в процессах ВМ-формирования клеток эпителиально-мезенхимального перехода, эмбриональных и стволовых клеток, гипоксии различного происхождения, потенцирующей активацию сосудо-созидающих сигнальных молекул [37–39].

Кроме того, микроокружение опухоли создает своеобразную клеточную нишу, оказывающую разнонаправленное влияние на пластичность новообразования, и во многом определяющую объясняющие морфологическую и функциональную гетерогенность злокачественных опухолей [40]. В частности, недавнее исследование [41] показало, что фибробласты могут индуцировать ВМ при легочной карциноме и наряду с иными стромальными факторами играют существенную роль в трансформации клеток опухоли и приобретении ими эндотелиально-подобного фенотипа.

Макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль. С одной стороны, макрофаги как фагоциты играют защитную роль, в том числе в течение опухолевого процесса. С другой стороны, M. Jager et al. показали, что при УМ человека высокая плотность макрофагов в строме опухоли связана с *плохим* прогнозом для пациента [42]. Как уже упоминалось, макрофаги играют роль в развитии ангиогенеза и, таким образом, могут стимулировать рост опухоли. Кроме того, было обнаружено, что макрофаги подавляют иммунные реакции организма против меланомы. Таким образом, актуально понимать двойственного значения этих клеток в организме.

Несмотря на сходство между ангиогенезом и ВМ, современные антиангиогенные подходы не могут воздействовать на сосудистые структуры ВМ, и действительно, было показано, что использование антиангиогенной терапии (бевацизумаб) увеличивает ВМ при раке яичников и молочной железы [34, 43]. Это может объясняться тем, что при подавлении образования и количества истинных кровеносных сосудов в опухоли нарастает гипоксия, индуцирующая в свою очередь процессы формирования ВМ.

Кроме того, гетерогенность истинных и псевдососудистых коммуникаций, когда сосуд может быть выстлан эндотелиоцитами, а псевдососудистая структура – опухолевыми клетками, ведёт к образованию гибридных сосудистых структур, способствующих интравазации новообразования

и системной диссеминации клеток опухоли [44]. Некоторые авторы рекомендуют принимать во внимание то обстоятельство, что сформированная ВМ повышает риск метастазирования новообразования после проведенного антиангиогенного лечения и считают, что исследования в области этого феномена в онкоморфологии несомненно позволят модифицировать подходы к данной терапии злокачественных опухолей [45].

С учётом изложенного полагаем, что макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль: про- и противотуморозную. Полученные в ходе настоящего исследования материалы указывают на способность макрофагов к васкулоподобной мимикрии на территории УМ, на вероятное значение этих клеток в генезе метастазирования опухоли и, тем самым, подтверждают возможность проопухолевой активности макрофагов.

Таким образом, более углубленное исследование путей формирования псевдососудистых пространств не только клетками самой опухоли, но и её микроокружением, помогает открыть новые направления в исследовании предикторов метастазирования УМ и наметить подходы к оптимизации терапии этих новообразований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами обнаружено и доказано, что макрофаги из клеточного микроокружения УМ способны к ВМ. Результаты проведенного иммуноморфологического, морфометрического и статистического исследований элементов самой УМ и её микроокружения убедительно показывают, что такие характеристики новообразования, как объемная плотность кровеносных сосудов и количество ТИМ, макрофагов в УМ могут быть использованы в качестве прогностических маркеров метастазирования опухоли. В ходе прогрессирования УМ васкуляризация опухоли кровеносными сосудами сменяется на макрофагальные псевдососудистые структуры. Полученные результаты изучения сосудов УМ, клеточного микроокружения опухоли и образованных клетками микроокружения псевдососудистых пространств с использованием иммуногистохимических маркеров могут быть использованы для оценки прогрессирования опухоли и прогнозирования появления отдаленных метастазов УМ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Grossniklaus HE, Eberhart CG, Kivela TT. WHO Classification of tumours of the eye. 4th edition. Lyon : IARC; 2018 pp. 87–93.
2. Folberg R, Rummelt V, Parys-Van Ginderdeuren R et al. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology* 1993;100(9):1389–1398. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(93\)31470-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(93)31470-3).
3. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(4):359–367. <https://doi.org/10.1093/jnci/91.4.359>.
4. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Microvascular density in predicting survival of patients with choroidal and ciliary body melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(11):2471–2480.
5. Chen X, Maniotis AJ, Majumdar D et al. Uveal melanoma cell staining for CD34 and assessment of tumor vascularity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(8):2533–2539.

- 6.Foss AJ, Alexander RA, Jefferies LW et al. Microvessel count predicts survival in uveal melanoma. *Cancer Res* 1996;56(13):2900–2903.
- 7.Sun W, Shen ZY, Zhang H et al. Overexpression of HIF-1 α in primary gallbladder carcinoma and its relation to vasculogenic mimicry and unfavourable prognosis. *Oncol Rep* 2012;27(6):1990–2002. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1746>.
- 8.Liu K, Sun B, Zhao X et al. Hypoxia induced epithelial-mesenchymal transition and vasculogenic mimicry formation by promoting Bcl-2/Twist1 cooperation. *Exp Mol Pathol* 2015;99(2):383–391. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.08.009>.
- 9.Zhou TJ, Huang XH, Gong L, Xiang L. Vasculogenic mimicry and hypoxia-inducible factor-1 α expression in cervical squamous cell carcinoma. *Genet Mol Res* 2016;15(1):15017396. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017396>.
- 10.Lim D, Do Y, Kwon BS et al. Angiogenesis and vasculogenic mimicry as therapeutic targets in ovarian cancer. *BMB reports*. 2020;53(6):291–298. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2020.53.6.060>.
- 11.Park Y, Kim J. Regulation of IL-6 signaling by miR-125a and let-7e in endothelial cells controls vasculogenic mimicry formation of breast cancer cells. *BMB Rep* 2019;52(3):214–219. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2019.52.3.308>.
- 12.Williamson SC, Metcalf RL, Trapani F et al. Vasculogenic mimicry in small cell lung cancer. *Nat Commun* 2016;7:13322. <https://doi.org/10.1038/ncomms13322>.
- 13.Cong R, Sun Q, Yang L et al. Effect of Genistein on vasculogenic mimicry formation by human uveal melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28(1):124. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-28-124>.
- 14.Maniotis AJ, Folberg R, Hess A et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999;155(3):739–752. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65173-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65173-5).
- 15.Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Смирнова Е.А. с соавт. Пролиферативная активность, степень злокачественности и прогноз при карциноидных опухолях легких. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. 2012;23(4):17–24.
- Rajhlin NT, Bukaeva IA, Smirnova EA et al. Proliferative activity, degree of malignancy and prognosis in lung carcinoid tumors. *Bulletin of the N. N. Blokhin Russian Research Center of the Russian Academy of Sciences = Vestnik RONC im. N. N. Blohina RAMN* 2012;23(4):17–24. (In Russ.).
- 16.Черданцева Т.М., Бобров И.П., Климачев В.В. Патоморфология перитуморозной зоны при раке почки разной степени злокачественности. *Медицина в Кузбассе* 2012;11(1):27–31.
- Cherdanceva TM, Bobrov IP, Klimachev VV. Pathomorphology of the peritumorous zone in kidney cancer of varying degrees of malignancy. *Medicine in Kuzbass = Medicina v Kuzbasse* 2012;11(1):27–31. (In Russ.).
- 17.Stei MM, Loeffler KU, Kurts C et al. Impact of macrophages on tumor growth characteristics in a murine ocular tumor model. *Exp Eye Res* 2016;151:9–18. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.07.008>.
- 18.Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(7):1414–1421.
- 19.Barnett FH, Rosenfeld M, Wood M et al. Macrophages form functional vascular mimicry channels in vivo. *Sci Rep* 2016;6:36659. <https://doi.org/10.1038/srep36659>.
- 20.Foss AJ, Alexander RA, Hungerford JL et al. Reassessment of the PAS patterns in uveal melanoma. *Br J Ophthalmol* 1997;81(3):240–248. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.3.240>.
- 21.Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become angiogenic. *Adv Cancer Res* 1996;69:135–174. [https://doi.org/10.1016/s0065-230x\(08\)60862-3](https://doi.org/10.1016/s0065-230x(08)60862-3).
- 22.Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339(6219):58–61. <https://doi.org/10.1038/339058a0>.
- 23.Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86(3):353–364. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80108-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80108-7).
- 24.Folberg R, Mehaffey M, Gardner LM et al. The microcirculation of choroidal and ciliary body melanomas. *Eye* 1997;11(2):227–238. <https://doi.org/10.1038/eye.1997.57>.
- 25.De Palma M, Biziato D, Petrova TV. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2017;17:457–474. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51>.
- 26.Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep* 2008;41(4):278–286. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.4.278>.
- 27.Ribatti D, Annese T, Ruggieri S et al. Limitations of anti-angiogenic treatment of tumors. *Transl Oncol* 2019;12(7):981–986. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.04.022>.
- 28.Dunleavy JM, Dudley AC. Vascular mimicry: concepts and implications for anti-angiogenic therapy. *Curr Angiogenesis* 2012;1(2):133–138. <https://doi.org/10.2174/2211552811201020133>.
- 29.Maniotis AJ, Folberg R, Hess A et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999;155(3):739–752. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65173-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65173-5).
- 30.Sierra JR, Corso S, Caione L et al. Tumor angiogenesis and progression are enhanced by Sema4D produced by tumor-associated macrophages. *J Exp Med* 2008;205(7):1673–1685. <https://doi.org/10.1084/jem.20072602>.
- 31.Chen P, Huang Y, Bong R et al. Tumor-associated macrophages promote angiogenesis and melanoma growth via adrenomedullin in a paracrine and autocrine manner. *Clin Cancer Res* 2011;17(23):7230–7239. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1354>.
- 32.Toritsu H, Ono M, Kiryu H et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNF α and IL-1 α . *Int J Cancer* 2000;85(2):182–188.
- 33.Hong TM, Teng LJ, Shun CT et al. Induced interleukin-8 expression in gliomas by tumor-associated macrophages. *J Neurooncol* 2009;93(3):289–301. <https://doi.org/10.1007/s11060-008-9786-z>.
- 34.Cao Z, Bao M, Miele L et al. Tumor vasculogenic mimicry is associated with poor prognosis of human cancer patients: a systemic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2013;49(18):3914–3923. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.07.148>.

- 35.Cao Z, Shang B, Zhang G et al. Tumor cell-mediated neovascularization and lymphangiogenesis contrive tumor progression and cancer metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2013;1836(2):273–286. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.08.001>.
- 36.Angara K, Borin TF, Arbab AS. Vascular mimicry: A novel neovascularization mechanism driving anti-angiogenic therapy (AAT) resistance in glioblastoma. *Transl Oncol* 2017;10(4):650–660. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2017.04.007>.
- 37.Liu Q, Qiao L, Liang N et al. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions. *J Cell Mol Med* 2016;20(9):1761–1769. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12851>.
- 38.Sun H, Yao N, Cheng S et al. Cancer stem-like cells directly participate in vasculogenic mimicry channels in triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Med* 2019;16(2):299–311. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0209>.
- 39.Delgado-Bellido D, Serrano-Saenz S, Fernández-Cortés M, Oliver FJ. Vasculogenic mimicry signaling revisited: focus on non-vascular VE-cadherin. *Mol Cancer* 2017;16(1):65. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0631-x>.
- 40.Denton AE, Roberts EW, Fearon DT. Stromal Cells in the Tumor Microenvironment. *Adv Exp Med Biol* 2018;1060:99–114. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78127-3_6.
- 41.Tsai YM, Wu KL, Liu YW et al. Cooperation Between Cancer and Fibroblasts in Vascular Mimicry and N2-Type Neutrophil Recruitment via Notch2-Jagged1 Interaction in Lung Cancer. *Front Oncol* 2021;11:696931. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.696931>.
- 42.Jager MJ, Ly LV, El Filali M, Madigan MC. Macrophages in uveal melanoma and in experimental ocular tumor models: Friends or foes? *Prog Retin Eye Res* 2011;30(2):129–146. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2010.11.004>.
- 43.Sun H, Zhang D, Yao Z et al. Anti-angiogenic treatment promotes triple-negative breast cancer invasion via vasculogenic mimicry. *Cancer Biol Ther* 2017;18(4):205–213. <https://doi.org/10.1080/15384047.2017.1294288>.
- 44.Silvestri VL, Henriët E, Linville RM et al. A Tissue-Engineered 3D Microvessel Model Reveals the Dynamics of Mosaic Vessel Formation in Breast Cancer. *Cancer Res* 2020;80:4288–4301. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1564>.
- 45.Xu Y, Li Q, Li XY et al. Short-term anti-vascular endothelial growth factor treatment elicits vasculogenic mimicry formation of tumors to accelerate metastasis. *J Exp Clin Cancer Res* 2012;31(1):16. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-31-16>.

Информация об авторах:

Анна Юрьевна Шаманова – кандидат медицинских наук;
 Евгений Леонидович Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
 Ирина Евгеньевна Панова – доктор медицинских наук, профессор;
 Валерия Владимировна Саевец – кандидат медицинских наук;
 Любовь Владимировна Ярина – ординатор;
 Татьяна Николаевна Шамаева – кандидат педагогических наук;
 Вероника Михайловна Власова – студент.

Information about authors:

Anna Yu. Shamanova – Ph.D. in medicine;
 Evgenij L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Irina E. Panova – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Valeriya V. Saevets – Ph.D. in medicine;
 Lyubov' V. Yarina – Ph.D. in pedagogical;
 Tat'yana N. Shamaeva – Ph.D. in medicine;
 Veronika M. Vlasova – Student.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University.

Информированное согласие было подписано всеми пациентами.

Informed consent was signed by all patients.

Статья поступила в редакцию 17.02.2023; одобрена после рецензирования 22.02.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 17.02.2023; approved after reviewing 22.02.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ИНДЕКС ОБНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ АТИПИЧЕСКОЙ МЕЛКОАЦИНАРНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПРОСТАТЫ

Анжела Алексеевна Дуб

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

drow_2390@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2007-3461>

Аннотация

Введение. Выделение такой диагностической категории как атипическая мелкоацинарная пролиферация предстательной железы (АМАП) определяет необходимость формирования дополнительных подходов к дифференциальной морфологической диагностике с целью своевременного определения аденокарциномы. Индекс обновления клеток (ИОК) активно используется для изучения пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз, но при патологии простаты этот критерий не исследован. **Цель исследования** – для оптимизации дифференциальной диагностики охарактеризовать индекс обновления клеток при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы различной степени дифференцировки. **Материалы и методы.** Исследовано 720 биоптатов простаты от 60 пациентов: 1-я — 15 пациентов с АМАП; 2-я – 15 с аденокарциномой высокой степени дифференцировки; 3-я – 15 с умеренно дифференцированной аденокарциномой; 4-я группа – 15 с низкодифференцированной аденокарциномой. Использован иммуногистохимический метод (Ki-67, СРР32) и непараметрические статистические методы исследования. **Результаты.** ИОК при АМАП по своим значениям был сопоставим с показателем при высокодифференцированной аденокарциноме ($p=0,5$). При умереннодифференцированной аденокарциноме ИОК был достоверно выше, чем при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме ($p=0,004$). Наибольшее увеличение ИОК отмечалось в группе низкодифференцированной аденокарциномы, что было выше и значимо различалось от групп АМАП ($p=0,000$), высокодифференцированной карциномы ($p=0,003$) и умеренно дифференцированной карциномы простаты ($p=0,000$). **Обсуждение.** Настоящее исследование помогло на основании статистического анализа выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме простаты, что позволяет пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы. Существует необходимость дальнейшего исследования ИОК с многопараметрическим анализом, включающим исследование уровня экспрессии гормонов, участвующих в регуляции клеточного обновления в предстательной железе и связанных с ними ростовых факторов. **Заключение.** Исследование позволило выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высокодифференцированной аденокарциноме простаты, что может пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы.

Ключевые слова: атипическая мелкоацинарная пролиферация простаты, аденокарцинома простаты, индекс обновления клеток, СРР32, Ki-67.

Для цитирования: Дуб А.А. Индекс обновления клеток в дифференциальной диагностике атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциномы простаты. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):65-73. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-65-73>.

CELL RENEWAL INDEX IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ATYPICAL SMALL ACINAR PROLIFERATION AND ADENOCARCINOMA OF THE PROSTATE

Anzhela A. Dub

South-Ural State Medical University

drow_2390@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2007-3461>**Abstract**

Introduction Singling out such diagnostic category as atypical small acinar proliferation of the prostate (ASAP) determines the necessity of forming additional approaches to differential morphological diagnosis in order to determine adenocarcinoma in time. Cell renewal index (CRI) is actively used to study proliferation and apoptosis in the epithelial cells of hormone-dependent glands, but in prostate pathology this criterion has not been studied. **The aim of the study** was to characterize the cell renewal index in atypical small acinar proliferation and prostate adenocarcinoma of different degrees of differentiation in order to optimize differential diagnosis. **Materials and methods** We studied 720 prostate biopsy specimens from 60 patients: Group 1 — 15 patients with ASAP; Group 2 – 15 with adenocarcinoma of high-grade of differentiation; Group 3 – 15 with moderately differentiated adenocarcinoma; Group 4 – 15 with low differentiated adenocarcinoma. We used immunohistochemical method (Ki-67, CPP32) and non-parametric statistical methods of investigation. **Results** The CRI in ASAP was comparable to that in highly differentiated adenocarcinoma ($p=0.5$). In moderately differentiated adenocarcinoma the CRI was significantly higher than in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma ($p=0.004$). The greatest increase in CRI was noted in the low-differentiated adenocarcinoma group, which was higher and significantly different from the ASAP ($p=0.000$), highly differentiated carcinoma ($p=0.003$) and moderately differentiated prostatic carcinoma ($p=0.000$) groups. **Discussion** On the basis of statistical analysis the present study helped to reveal the identity of CRI parameters in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma of the prostate, which allows to add a number of morphological criteria for transferring patients from the group of undetermined diagnosis of ASAP to the group of adenocarcinoma. There is a need for further investigation of CRI with multiparametric analysis including investigation of the expression levels of hormones involved in the regulation of cell renewal in the prostate and growth factors associated with them. **Conclusion** The study allowed to reveal the identity of the CRI in ASAP and highly differentiated adenocarcinoma of the prostate, which can supplement a number of morphological criteria for transferring patients from the group of undetermined diagnosis of ASAP to the group of adenocarcinoma.

Key words: atypical small acinar proliferation of the prostate, prostate adenocarcinoma, cell renewal index, CPP32, Ki-67.

For citation:

Dub AA. Cell renewal index in the differential diagnosis of atypical small acinar proliferation and adenocarcinoma of the prostate. Ural medical journal 2023;22(2):65-73. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-65-73>

ВВЕДЕНИЕ

Своевременная диагностика онкологических и пренеопластических заболеваний предстательной железы – важная проблема современной урологии [1, 2, 3]. По данным Российского общества клинической онкологии в 2021 году в структуре онкологической заболеваемости в России carcinoma предстательной железы занимает 4 место [4]. Гистопатологический диагноз аденокарциномы предстательной железы основан на светомикроскопическом исследовании срезов ткани, окрашенных гематоксилин-эозином. Множество факторов, включая преданалитические и аналитические элементы, влияют на способность патологоанатома точно диагностировать аденокарциному предста-

тельной железы. Ложноотрицательный диагноз, то есть неспособность диагностировать аденокарциному предстательной железы, может иметь серьезные клинические последствия. Важно определить и понять те факторы, которые могут влиять на гистопатологические ложноотрицательные диагнозы аденокарциномы предстательной железы и вызывать их [5, 6, 7].

Выделение в современной классификации такой диагностической категории как атипическая мелкоацинарная пролиферация предстательной железы (АМАП, от англ. Atypical small acinar proliferation – ASAP), когда малый объем железистых структур считается недостаточным для постановки диагноза злокачественного новоо-

бразования или опровержения его, определяет необходимость формирования дополнительных подходов к дифференциальной морфологической диагностике с целью своевременного определения истинной неопластической трансформации [8, 9, 10]. Некоторыми авторами предпринимались попытки установить место АМАП в канцерогенезе рака простаты. Так, например, И.Р. Четер с этой целью исследовала индексы пролиферации и апоптоза, с помощью иммуногистохимических маркеров: Ki-67 (ведущего пролиферативного фактора, имеющего большое значение в злокачественной трансформации клеток и опухолевой прогрессии) и Caspase-3 (CPP32) (пускового фактора активации апоптотической программы) [11]. Следует отметить, что четкие дифференциально-диагностические критерии для АМАП и аденокарциномы на основании параметров клеточного обновления направленно разработаны не были [12]. Поиск возможностей оптимизации диагностического алгоритма при карциноме простаты и путей объективизации информации о процессах клеточного обновления диктует необходимость комплексного определения параметров процессов, задействованных в поддержании клеточного гомеостаза, в их взаимосвязи [12, 13, 14]. С этой целью для более объективного изучения пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз предлагается активное использование индекса обновления клеток (ИОК) [15]. Однако применительно к пренеопластической и неопластической патологии простаты ИОК до настоящего времени не был задействован. Возможно, что сопоставление индексов пролиферации и апоптоза в виде ИОК сможет помочь объективизировать эффект пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках простаты при различной степени дифференцировки аденокарциномы простаты, ускорить и упростить разрешение вопроса с диагностической категорией АМАП.

Цель исследования – для оптимизации дифференциальной диагностики охарактеризовать индекс обновления клеток при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы различной степени дифференцировки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили 720 биоптатов простаты и документация (направление на гистологическое исследование форма №014/у-07) 60 пациентов отделения лучевой диагностики ГБУЗ «Челябинского окружного клинического онкологического диспансера» и ГБУЗ «Челябинского областного патологоанатомического бюро» в возрасте от 40 до 82 лет за 2012–2019 гг. Забор материала выполнялся посредством тонкоигольной трепан-биопсии предстательной железы из 12 точек: верхушка, средняя часть и основание

в парасагиттальных областях обеих долей и из периферической зоны. В исследование были взяты биоптаты пациентов с впервые выявленной аденокарциномой простаты или АМАП. Из исследования на этапе формирования выборки были исключены пациенты с вторичными злокачественными опухолями простаты и имевшие в анамнезе жизни или болезни химио- и/или лучевую терапию. Для определения гистологического типа патологии предстательной железы, использовали руководство D.G. Bostwick et al и Классификацию опухолей ВОЗ [16, 17]. Морфологическая оценка степени злокачественности осуществлялась по модифицированной шкале Глисона [18]. Перед группировкой был проведён гистологический метод исследования. Для анализа материала было сформировано в зависимости от диагноза 4 группы по 180 биоптатов от 15 мужчин в каждой: 1-я группа – с АМАП; 2-я группа – с диагнозом высокодифференцированной аденокарциномы простаты; 3-я группа – с умереннодифференцированной аденокарциномой; 4-я группа – с низкодифференцированной аденокарциномой. После формирования групп были проведены другие методы морфологического исследования: иммуногистохимический и морфометрический методы исследования. Все методы морфологического исследования выполнены на кафедре патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Для иммуногистохимического исследования тканевые образцы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 18-24 часов. Затем обезвоживали, обезжиривали и заливали в парафин в гистологическом автомате по принятой методике. Окрашивали гематоксилином и эозином. В группу высокодифференцированной аденокарциномы были включены пациенты с суммой по Глисона до 6 баллов, в группу умереннодифференцированной аденокарциномы – 7-8 баллов и в группу низкодифференцированной – 9–10 баллов. Моноклональные антитела, которые мы использовали в исследовании (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург), были предназначены для работы с парафиновыми срезами. Для иммуногистохимического исследования процесса апоптоза использованы моноклональные антитела Caspase-3 (CPP32), для изучения пролиферации – моноклональные антитела Ki-67. Для визуализации антигенреактивных клеток применена безбиотиновая система детекции REVEAL – Biotin-Free Polyvalent DAB (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург). (ООО «Биовитрум», г. Санкт-Петербург). При просмотре препаратов на светооптическом уровне антигенпозитивные клетки идентифицировали по коричневому окрашиванию. Использование каждого вида моноклональных антител сопровождалось постановкой контрольных реакций. Иммуноморфологическую оценку начинали с просмотра не-

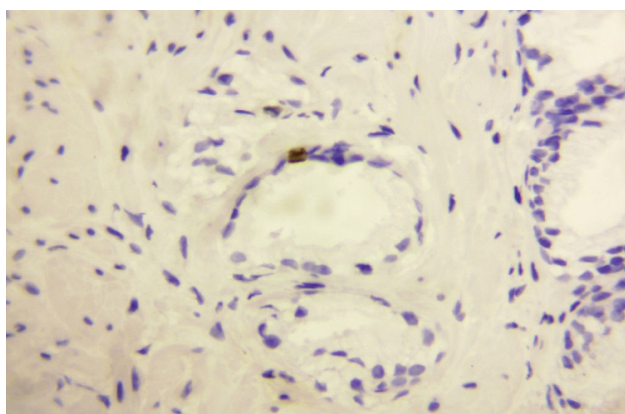
гитивного контроля. Определение интенсивности пролиферации и апоптоза в эпителии желез предстательной железы способом вычисления индекса пролиферации (ИП – экспонирование клетками антигена Ki-67), индекс апоптоза (ИА – экспонирование клетками антигена CPP32) как процентное отношение числа иммуногистохимически-позитивных эпителиоцитов к общему числу подсчитанных опухолевых эпителиальных клеток. Просматривалось от 100 до 300 эпителиоцитов в 20 случайных полях зрения ($\times 400$). Индекс (ИП или ИА) = число иммунопозитивных клеток / общее число опухолевых клеток $\times 100$. Для удобства индексы выражались в процентах. Пролиферативная активность эпителиоцитов оценивалась как низкая (до 20 % меченых ядер на 100 учтенных), средняя (20–50 % ядер) и высокая (>50 % ядер). Оценка экспрессии маркеров клеточного обновления осуществлялась по балльной системе: 1 (+) – слабая 1 – менее 25% меток; 2 (++) – умеренная 2 – 25–50% клеток; 3 (+++) – сильная 3 – 50–75% клеток; 4 (+++++) – очень сильная 4 – более 75% клеток. Совокупный результат = сумма баллов «интенсивность» + «распространённость»: – нет окраски или слабая: 0–1 балла (0, +); умеренная – 2 балла (++); сильная – 3 балла (+++) [19].

Дополнительно вычислялся ИОК, который представляет собой отношение ИП к ИА [15]. Морфометрическое исследование выполняли с применением электронного аналога окулярной стереометрической сетки Автандилова, содержащей 100 тест-точек и морфометрического программного обеспечение Axiovision ver.4.8 (Carl Zeiss AG, Германия) [20, 21]. Статистический анализ начинался с определения типа изучаемых переменных. Так как распределение отличалось от нормального, применяли медиану (Me), учитывали нижний 25-й (L) и верхний 75 (H) квартили, интерквартильный размах. Вариационный анализ осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни [22]. Достоверными считались различия при $p < 0,05$. Статистическое измерение связи (силы и направления) проводилось

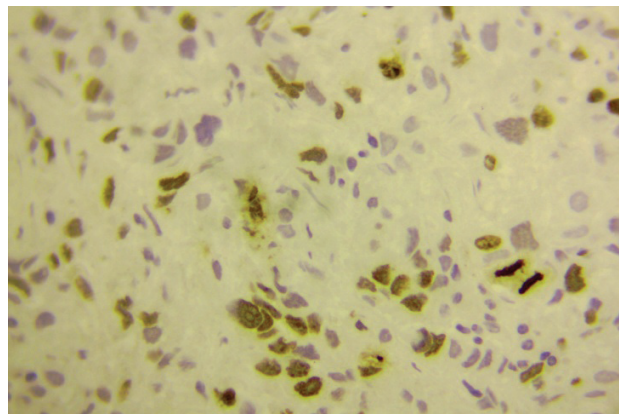
путём вычисления коэффициента корреляции рангов Спирмена (r) [22]. Коэффициент равен +1,0 при прямой связи, (1,0 – при обратной связи, 0 – в отсутствии связи. Сила корреляционной связи оценивалась качественно по шкале Чеддока: $r = 0,0 \dots (0,25$ и $r = 0,0 \dots 0,3$ – отсутствие связи или слабая связь; $r = 0,3 \dots 0,5$ ((0,3... (0,5) – умеренная связь; $r = 0,51 \dots 0,7$ ((0,51... (0,7) – заметная связь; $r = 0,7$ ((0,7... (0,9) – высокая связь $r = 0,9$ ((0,9... (0,99) – весьма высокая связь [19, 22]. Для расчётов применяли лицензионные программы Microsoft Excel, Statistica 6,0 для операционной системы Windows XP.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наличие метки в виде тёмно-коричневых гранул различного размера и плотности в ядрах эпителиоцитов с более интенсивным окрашиванием ядрышек, окрашивание фигур митозов, в том числе патологических, демонстрировали уровень экспрессии маркера Ki-67, по которому определялась пролиферативная активность в железистом эпителии простаты. Окрашивание ядер могло быть сплошным либо очагово-гранулярным. Иммунопозитивная реакция с маркером Ki-67 наблюдалась во всех исследованных тканевых образцах АМАП и аденокарциномы предстательной железы. При анализе полученных результатов нами установлено, что наибольший ИП регистрировался при аденокарциноме низкой степени дифференцировки – [Me = 15% (9–31)]. Так, при аденокарциноме высокой степени дифференцировки ИП был в пять раз ниже [Me = 3% (1–9)], чем при низкодифференцированной аденокарциноме и более чем в два раза ниже, чем при умереннодифференцированной [Me = 8% (3–23)] ($p = 0,040$ и $p = 0,000$, соответственно). Схожее с аденокарциномой высокой степени дифференцировки значение ИП зарегистрировано при АМАП, где [Me = 3% (1–6)]. Статистически значимые достоверные различия ИП выявлены между АМАП и аденокарциномой умеренной и низкой степени дифференцировки ($p = 0,030$ и $p = 0,001$, соответственно) (рис. 1).



а



б

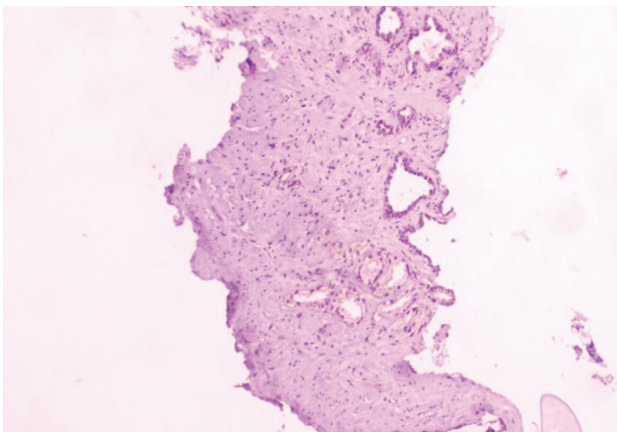
Рис. 1. Экспонирование метки маркера Ki-67 в эпителиоцитах простаты при иммуногистохимическом исследовании: а – низкий уровень экспрессии Ki-67 при АМАП; б – высокий уровень экспрессии Ki-67 ядрами эпителиоцитов при низкодифференцированной аденокарциноме простаты. Стрептавидин-биотиновый метод, докраска гематоксилином; а,б – $\times 400$.

При сравнении ИП аденокарцином различных степеней дифференцировки между собой: низкой с высокой, умеренной с высокой и умеренной с низкой степенью – были найдены статистически значимые достоверные различия между ними (соответственно $p=0,001$; $p=0,030$; $p=0,040$).

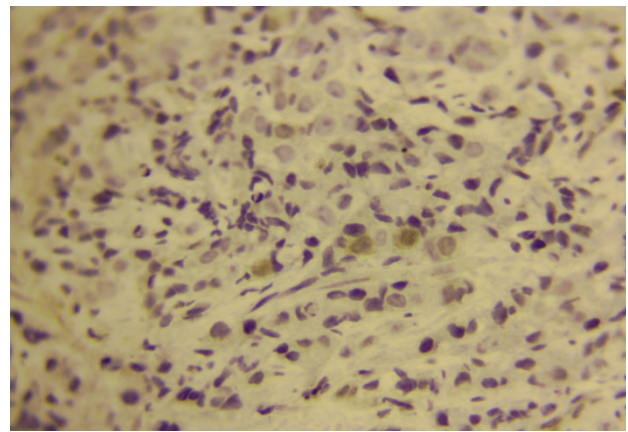
Наличие метки в виде тёмно-коричневых гранул различного размера и плотности в ядрах с более интенсивным окрашиванием ядрышек при использовании маркера апоптоза Caspase-3 (CPP32) свидетельствовало о позитивной иммуногистохимической реакции. Экспрессия регистрировалась преимущественно в ядрах эпителиоцитов простаты, но также нередко наблюдалась и в их цитоплазме. Максимальное количество клеток в состоянии апоптоза, верифицированных посредством маркера Caspase-3, обнаружено при аденокарциноме высокой степени дифференцировки и превосходило данные этого параметра в биоптатах всех групп исследования: при АМАП и умеренно- и низкодифференцированной аденокарциноме простаты. Соответственно и более высокие значения ИА были определены при высокодифференцированной аденокарциноме простаты, где медиана

составила [Me=14% (2–28)]. Так, индекс апоптоза (ИА) при АМАП составил [Me=9% (2–18)], а при умереннодифференцированной аденокарциноме отмечалось его снижение [Me=6% (1–20)]. Наименьший ИА выявлен при низкодифференцированной аденокарциноме [Me=3% (1–12)].

Установлены достоверные различия ИА по экспрессии Caspase-3 (CPP32) между АМАП и аденокарциномой высокой степени дифференцировки: [Me=9 (2–18)] и [Me=14 (2–28)] ($p=0,000$), между АМАП и аденокарциномой умеренной степени дифференцировки: [Me=9 (2–18)] и [Me=6 (1–20)] ($p=0,002$) а также между АМАП и аденокарциномой низкой степени дифференцировки [Me=9 (2–18)] и [Me=3% (1–12)], ($p=0,000$). Следует отметить, что при АМАП и высокодифференцированной карциноме экспрессия маркера CPP32 видна была даже при малом увеличении и была выражена сильнее (3 балла), чем при умереннодифференцированной аденокарциноме 2 (балла) и при низкодифференцированной аденокарциноме (соответственно $p=0,04$, $p=0,010$): чем ниже была дифференцировка аденокарциномы, тем окрашивание ядер меткой CPP32 становилось слабее (рис. 2).



а



б

Рис. 2. Экспрессия маркера апоптоза CPP32 эпителиоцитами простаты: а – интенсивная экспрессия CPP32 железистыми эпителиоцитами при АМАП; б – слабая экспрессия CPP32 железистым эпителием при низкодифференцированной аденокарциноме. Стрептавидин-биотинный метод с докраской ядер гематоксилином; а – $\times 100$; б – $\times 400$.

Данные, полученные в процессе вычисления ИОК, позволили представить процесс клеточного обновления при карциноме простаты и АМАП, на наш взгляд, более объективно, поскольку учитывалось уже соотношение индексов пролиферации и апоптоза: только пролиферирующих клеток и клеток, необратимо вступивших в апоптоз, а клетки, не участвующие в пролиферации и апоптозе, были исключены полностью. Так, ИОК при АМАП по своим значениям был максимально близок с этим показателем при аденокарциноме простаты высокой степени дифференцировки: [Me=0,33(0,5–0,33)], [Me=0,21(0,14–0,32)] ($p=0,090$). При умереннодифференцированной аденокарциноме простаты ИОК составил [Me=1,33 (3–1,15)] и был статистически значимо выше, чем при АМАП и высокодифферен-

цированной аденокарциноме ($p=0,004$). Наибольшее увеличение ИОК отмечено в группе низкодифференцированной аденокарциномы – [Me=5 (9–25)], что статистически значимо различалось с группами АМАП ($p=0,000$), высокодифференцированной карциномы ($p=0,003$) и умереннодифференцированной карциномы простаты ($p=0,000$). Зарегистрирована заметной силы отрицательная корреляционная связь ($r=-0,53$) между ИОК и степенью дифференцировки опухоли ($p=0,010$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В течение многих лет происходит исследование активности пролиферативных процессов при различной патологии предстательной железы посредством маркера Ki-67, чему посвящено много

научных трудов. Поэтому на сегодняшний день ИП карциномы предстательной железы достаточно подробно изучен, в том числе и во взаимосвязи с такими критериями как возраст пациентов, степень дифференцировки и наличие метастазов, а также в зависимости от прогностической группы [11, 23]. Кроме того, существуют публикации, в которых с доказательных позиций рекомендуется для определения ИП карциномы предстательной железы использовать Ki-67 в качестве надёжного прогностического маркера, отражающего скорость роста опухоли [11, 24, 25, 26]. L.J. Veliiković et al. (2007) при сравнительной характеристике пролиферативной активности простатической интраэпителиальной анаплазии (ПИН) и карциномы указывали на значительное повышение ИП при карциноме простаты в сравнение с ПИН [27]. Однако исследования ИП при АМАП, базирующиеся на определении экспрессии маркера Ki-67, до настоящего времени остаются, по мнению И.Р. Четер, в том числе, разноречивыми и не дают объективного представления о сравнительной характеристике процессов клеточного обновления при АМАП и аденокарциномах различной степени дифференцировки [11, 24]. В настоящем исследовании ИП при АМАП не имеет статистических различий лишь при сравнении с высококодифференцированной аденокарциномой, что возможно, объясняет их морфологическую общность и не противоречит рекомендации С. Moore et al. приравнять АМАП к ПИН высокой степени [28]. Для более полной оценки состояния клеточного обновления вместе с маркером Ki-67 рутинно применяют маркер апоптоза Caspase3 (CPP32). Есть данные о прогностической ценности последнего при аденокарциноме предстательной железы. Например, в проведенных исследованиях N. Torrealba et al. (2015) доказано, что в тех случаях, когда экспрессия CPP32 была негативной, прогноз заболевания аденокарциномой был крайне неблагоприятным [29]. Кроме того, в литературе есть информация о выявлении зависимости между уровнем экспрессии CPP32 и степенью дифференцировки аденокарциномы и рекомендации, как и в случае с Ki-67, расценивать выраженность метки этого маркера в качестве полезного прогностического фактора [30]. Наряду с этим есть научные работы, опровергающие факт зависимости экспрессии CPP32 и степени дифференцировки карциномы простаты из-за отсутствия статистически значимых корреляций [31]. Некоторые авторы при исследовании доброкачественных гиперпластических заболеваний предстательной железы обнаруживали значительное повышение экспрессии CPP32 не только в секреторном, но и в базальном эпителии [32]. Вызывает также интерес экспрессия этого ядерного маркера в цитоплазме. В работе А.А. Яковлева и соавт. (2008), например, упоминается о неапоптотической роли CPP32 в нормальных клетках головного мозга, там экспониру-

вание данного маркера в цитоплазме происходит значительнее, чем в ядре [33]. Функциональная значимость описанного распределения фермента пока не ясна. Однако есть предположения, что, как и другие представители семейства каспаз, CPP32 в норме вовлечена не только в реализацию механизмов гибели клеток, но и в ряд других не менее важных процессов: регуляцию клеточного цикла, процессинг цитокинов, дифференцировку миоцитов и клеток-предшественников при гемопоэзе, пролиферацию Т-лимфоцитов [34]. В свою очередь, частое сочетание АМАП с хроническим простатитом и / или гиперплазией простаты, может провоцировать различные повреждения ДНК секреторного эпителия и приводить к нарастанию мутаций генома. Это происходит во многом из-за длительной персистенции воспалительного лимфогистиоцитарного инфильтрата, который выступает причиной вторичной альтерации предстательной железы активными молекулами перекиси водорода (H_2O_2) и оксида азота (NO) в условиях оксидантного стресса [22, 35]. Возможно, с этим и связано частичное распределение маркера CPP32 в цитоплазме предстательной железы при АМАП. Объективизация исследования пролиферативной активности как значимого фактора злокачественной трансформации клеток и прогрессии опухоли во взаимосвязи с нарушением активации caspase-3 и синтеза Caspase-3 (CPP32) представляется возможной при использовании ИОК. Индексы пролиферативной и апоптотической активности, безусловно, являются важными показателями, характеризующими биологическую природу опухоли, но применение ИОК для оценки изменений параметров клеточного обновления с помощью маркеров клеточного обновления Ki-67 и CPP32 может внести, на наш взгляд, коррективы в методику дифференциальной диагностики карциномы и АМАП, а также устранить противоречия в трактовке диагностической категории АМАП. ИОК используется для изучения двойного эффекта пролиферации и апоптоза в эпителиальных клетках гормонально зависимых желёз. Важно отметить, что изолированное сравнение индексов апоптоза и пролиферации имеет некоторые ограничения, так как каждый индекс отражает, как количество раз, когда каждое событие происходит в единицу времени, так и долю клеток в популяции, способных претерпевать каждое событие. Клетки, которые не подвергаются клеточной пролиферации и апоптозу не вносят вклад в расчёт индекса обновления клеток [36].

Настоящее исследование помогло на основании статистического анализа выявить тождество показателей ИОК при АМАП и высококодифференцированной аденокарциноме простаты, что позволяет пополнить ряд морфологических критериев для перевода пациентов из группы неопределённого диагноза АМАП в группу аденокарциномы. Суще-

ствует необходимость дальнейшего исследования ИОК с многопараметрическим анализом, включающим исследование уровня экспрессии гормонов, участвующих в регуляции клеточного обновления в предстательной железе и связанных с ними ростовых факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Самый низкий индекс обновления клеток зарегистрирован при аденокарциноме высокой степени дифференцировки, равно как и при атипической мелкоацинарной пролиферации, а самый высокий – при аденокарциноме низкой степени дифференцировки. Индекс обновления клеток позволяет нам измерить частоту возникновения пролиферации относительно апоптоза. Это помогает уменьшить или устранить эффекты ложного различия между тканевыми образцами. С помощью индекса обнов-

ления клеток обнаружена заметной силы отрицательная корреляционная связь между степенью дифференцировки опухоли и индексом обновления клеток: чем ниже степень дифференцировки опухоли, тем выше индекс обновления клеток.

Применение индекса обновления клеток для оценки изменений параметров клеточного обновления посредством использования таких маркеров клеточного обновления как Ki-67 и CPP32 может внести новые подходы в дифференциальную диагностику атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциномы простаты. Дополнение спектра морфологических критериев индексом обновления клеток может помочь ускорить в ряде случаев трансформацию патологоанатомического заключения из диагностической категории атипической мелкоацинарной пролиферации в диагноз аденокарциномы простаты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Parwani AV, Patel A, Zhou M et al. An update on computational pathology tools for genitourinary pathology practice: A review paper from the Genitourinary Pathology Society (GUPS). *J Pathol Inform* 2022;14:100177. <https://doi.org/10.1016/j.jpi.2022.100177>.
2. Popescu TCT, Stepan AE, Florescu MM, Simionescu CE. Histopathological Study of the Prostate Cancer Growth Patterns in Relation with the Grading Systems. *Curr Health Sci J* 2022;48(1):95–101. <https://doi.org/10.12865/CHSJ.48.01.14>.
3. Humphrey PA. Variants of acinar adenocarcinoma of the prostate mimicking benign conditions *Mod Pathol* 2018;31(S1):S64–70. <http://doi.org/10.1038/modpathol.2017.137>.
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022; 3–9. The state of oncological care for the population of Russia in 2021 / ed. AD Kaprina, VV Starinskogo, AO Shahzadovoj. M.: Gercena MNIIOI – filial NMIC radiologii. 2022; 3–9. (In Russ.). URL: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2022/05/sostoyanie-onkologicheskoy-pomoshhi-naseleniyu-rossii-v-2021-godu.pdf>.
5. Yang C, Humphrey PA. False-Negative Histopathologic Diagnosis of Prostatic Adenocarcinoma *Arch Pathol Lab Med* 2020;144(3):326–334. <http://doi.org/10.5858/arpa.2019-0456-RA>.
6. Zacharouli K, Vageli DP, Koukoulis GK et al. Patient with prostatic adenocarcinoma with plasmacytoid features and an aberrant immunohistochemical phenotype diagnosed by biopsy and a mini-review of plasmacytoid features in the genitourinary system: A case report. *Mol Clin Oncol* 2022;16(3):67. <http://doi.org/10.3892/mco.2022.2500>.
7. Verhoef EI, van Cappellen WA, Slotman JA, Kremers GJ et al. Three-dimensional analysis reveals two major architectural subgroups of prostate cancer growth patterns. *Mod Pathol* 2019;32(7):1032–1041. <http://doi.org/10.1038/s41379-019-0221-0>.
8. Tsampoukas G, Manolas V, Brown D, et al. Atypical small acinar proliferation and its significance in pathological reports in modern urological times. *Asian J Urol* 2021;9(1):12–17. <http://doi.org/10.1016/j.ajur.2021.04.008>.
9. Kim H, Kim JK. Clinical strategy of repeat biopsy in patients with atypical small acinar proliferation (ASAP). *Sci Rep* 2021;11(1). <http://doi.org/10.1038/s41598-021-02172-8>.
10. Oderda M, Cuneo ASL, Rosazza M et al. Natural history of widespread high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation: should we rebiopsy them all? *Scand J Urol* 2021;55(9):1–6. <http://doi.org/10.1080/21681805.2020.1866659>.
11. Четер И.Р. Морфологическая характеристика и морфогенез атипичной мелкоацинарной пролиферации предстательной железы с нозологических позиций: диссертация... кандидата медицинских наук: 14.03.02: Курган; 2020; 14–34. Cheter IR. Morphological characteristics and morphogenesis of atypical small-acinar proliferation of the prostate gland from nosological positions: dissertation ... candidate of medical sciences: 14.03.02: Kurgan; 2020; 14–34. (In Russ.). URL: <https://www.disserscat.com/content/morfologicheskaya-kharakteristika-i-morfogenez-atipichnoi-melkoatsiarnoi-proliferatsii-preds>.
12. Дуб А.А., Четер И.Р. Характеристика маркеров клеточного обновления и уровень экспрессии IGF-1R, EGFR, AR при атипической мелкоацинарной пролиферации и аденокарциноме предстательной железы. *Уральский медицинский журнал* 2020;186(3):23–29. <https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.03.14>. Dub AA, Cheter IR Characterization of cell renewal markers and level of IGF-1R expression, EGFR, AR in atypical melcoacinar proliferation and prostate adenocarcinoma. *Ural Medical Journal* 2020;186(3):23–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.03.14>.
13. Perletti G, Magri V, Vral A et al. Green tea catechins for chemoprevention of prostate cancer in patients with

- histologically-proven HG-PIN or ASAP. Concise review and meta-analysis. *Arch Ital Urol Androl* 2019;91:153. <http://doi.org/10.4081/aiua.2019.3.153>.
14. Eryilmaz IE, Vuruskan BA, Kaygısız O et al. RNA-based markers in biopsy cores with atypical small acinar proliferation: Predictive effect of T2E fusion positivity and MMP-2 upregulation for a subsequent prostate cancer diagnosis. *Prostate* 2019;79:195. <http://doi.org/10.1002/pros.23724>.
 15. Navarette MAH, Maier CM, Falzoni R et al. Cellular renovation indices of the human mammary epithelium during the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Brest Cancer Research* 2005;7:306–313. <http://doi.org/10.1186/bcr994>.
 16. Bostwick DG, Meiers I. Neoplasia of the prostate. In: Bostwick DG, Cheng L, eds. *Urologic Surgical Pathology*. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier. 2008. pp. 442–579. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-01970-5.50011-7>.
 17. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol* 2016;70(1):106–119. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>.
 18. Epstein JI, Egevad L, Amin MB et al. Grading Committee. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostate Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* 2016;40(2):244–252. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000530>.
 19. Маслякова Г.Н., Воронина Е.С., Фомкин Р.Н. Морфологические методы исследования в диагностике рака предстательной железы. *Фундаментальные исследования* 2012;(12-2):426–430.
 - Maslyakova GN, Voronina ES, Fomkin RN Morphological research methods in the diagnosis of prostate cancer. *Fundamental'nye issledovaniya=Basic Research* 2012;(12-2):426–430. (In Russ.).
 20. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М : Медицина; 1990. С. 123–125.
 - Avtandilov G.G. Medical morphometry. M : Medicine; 1990. pp. 123–125. (In Russ.).
 21. Patel AU, Shaker N, Mohanty S et al. Cultivating Clinical Clarity through Computer Vision: A Current Perspective on Whole Slide Imaging and Artificial Intelligence. *Diagnostics (Basel)* 2022;12(8):1778. <http://doi.org/10.3390/diagnostics12081778>.
 22. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. М : МедиаСфера ; 2002. С. 109–195
 - Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. Application of the program package Statistics. M : MediaSfera ; 2002. pp. 109–195. (In Russ.).
 - URL: https://www.studmed.ru/view/rebrova-oyu-statisticheskiy-analiz-medicinskih-dannyh_0149fe87d1d.html.
 23. Malle E, Gil P, Carlos S et al. Atypical small acinar proliferation: Review of a series of 64 patients. *Scand J Urol Nephrol* 2006;40(4):272–275. <https://doi.org/10.1080/00365590600641939>.
 24. Buhmeida A, Pyrhonen S, Laato M, Collan Y. Prognostic factors of prostate cancer. *Diagn Pathol* 2006;1:4 <https://doi.org/10.1186/1746-1596-1-4>.
 25. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Сергейко И.П. и соавт. Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров Ki-67 и p53 после радикальной простатэктомии. *Онкоурология* 2014;10(1):49–52. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2014-10-1-49-52>.
 - Kovylyna MV, Prilepskaya EA, Sergeiko I.P et al. Prognostic Value Of The Immunohistochemical Markers Ki-67 And P53 After Radical Prostatectomy. *Cancer Urology* 2014;10(1):49–52. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2014-10-1-49-52>.
 26. Кудрявцев Г.Ю., Кудрявцева Л.В., Михалева Л.М. с соавт. Иммуногистохимическое исследование экспрессии Ki-67, p53 и Notch1 в аденокарциномах предстательной железы различной степени злокачественности. *Архив патологии* 2020;82(5):42–49. <https://doi.org/10.17116/patol20208205142>.
 - Kudryavtsev GYu, Kudryavtseva LV, Mikhalyova LM et al. Immunohistochemical study of Ki-67, p53 and Notch1 expressions in prostate cancer of different grades. *Arkhiv Patologii* 2020;82(5):42–49. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20208205142>.
 27. Verma R, Gupta V, Singh J et al. Significance of p53 and ki-67 expression in prostate cancer. *Urol Ann* 2015;7(4):488–93. <https://doi.org/10.4103/0974-7796.158507>.
 28. Veliiković LJ, Dordević B, Rancić G, Marjanović G. Expression of nuclear Ki-67 antigen in prostatic high grade intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *Vojnosanit Pregl* 2007;64(5):325–330. <https://doi.org/10.2298/vsp0705325j>.
 29. Moore CK, Karikhehalli S, Nazeer T. Prognostic significance of high grade prostatic intraepithelial neoplasia and atypical small acinar proliferation in the contemporary era. *J Urol* 2005;173:70–72. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000148260.69779.c5>.
 30. Corsi F, Capradossi F, Pelliccia A, Briganti S et al. Apoptosis as Driver of Therapy-Induced Cancer Repopulation and Acquired Cell-Resistance (CRAC): A Simple In Vitro Model of Phoenix Rising in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1152. <https://doi.org/10.3390/ijms23031152>.
 31. Rodríguez-Berriguete G, Galvis L, Fraile B et al. Immunoreactivity to caspase-3, caspase-7, caspase-8, and caspase-9 forms is frequently lost in human prostate tumors. *Hum Pathol* 2012;43(2):229–237. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.04.024>.
 32. Motta VP, Malafaia O, Ribas-Filho JM et al. CASPASE-3 and CD-34 expression in prostate adenocarcinoma. *Rev Col Bras Cir* 2009;36(3):223–229. <https://doi.org/10.1590/s0100-69912009000300008>.
 33. Яковлев А.А., Горозоватский А.Ю., Онуфриев М.В. с соавт. Катепсин мозга способен расщеплять субстрат каспазы. *Биохимия* 2008;73(3):408–413. <https://doi.org/10.1134/s0006297908030140>.
 - Yakovlev AA, Gorozovatsky AYU, Onufriev MV et al. Brain cathepsin B cleaves a caspase substrate. *Biochemia*

2008;73(3):408–413. (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/s0006297908030140>.

34. Acar V, Couto Fernandez FL, Buscariolo FF. et al. Immunohistochemical Evaluation of PARP and Caspase-3 as Prognostic Markers in Prostate Carcinomas. *Clin Med Res* 2021;19(4):183–191. <https://doi.org/10.3121/cmr.2021.1607>.

35. Udensi KU, Tchounwou P.B. Oxidative stress in prostate hyperplasia and carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res* 2016;35:139. <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0418-8>.

36. Allan DJ, Howell A, Roberts SA et al. Reduction in apoptosis relative to mitosis in histologically normal epithelium accompanies fibrocystic change and carcinoma of the premenopausal human breast *J Pathol* 1992;167:25–32. <https://doi.org/10.1002/path.1711670106>.

Сведения об авторе:

А.А. Дуб – доктор медицинских наук, доцент.

Information about the author:

A.A. Dub – Doctor of Science (Medicine), Associated Professor.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The author declares no conflicts of interests.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ЮУГМУ Минздрава РФ (протокол №11 от 09.11.2013).

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University (#11 from 09.11.2013).

Информированное согласие было подписано всеми пациентами, чей биологический материал был включён в исследование.

Informed consent was signed by all patients whose biological material was included in the study.

Статья поступила в редакцию 07.02.2023; одобрена после рецензирования 27.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 07.02.2023; approved after reviewing 27.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ПРЕДИКТИВНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МИКРО-РНК И КОЛИЧЕСТВА РАЙОНОВ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ПРИ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ОПУХОЛИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕОПРЕДЕЛЕННОГО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА

Татьяна Евгеньевна Ильина¹, Евгений Леонидович Казачков²,
Сергей Владимирович Сергийко³

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹ chlorid@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4186-8108>

² doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ ssv_1964@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6694-9030>

Аннотация

Введение. В статье приведены современные представления о фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала (ФОНЗП) с учётом принципов классификации ВОЗ. В качестве методов выявления потенциальных предикторов онкодиагностики приводят молекулярно-генетическое исследование с идентификацией мутации ряда генов, а также определение уровня экспрессии некоторых микроРНК. Показано, что состояние областей ядрышковых организаторов является маркером скорости клеточной пролиферации. **Цель исследования** – оценить прогностическую значимость уровня экспрессии некоторых микроРНК и количества районов ядрышковых организаторов в ткани щитовидной железы при ФОНЗП. Материалы и методы. Изучены профиль, уровень экспрессии микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени и районов ядрышковых организаторов в 98 наблюдениях ФОНЗП, составивших 4,75% от всех оперированных за четыре года по поводу опухолей щитовидной железы. **Результаты.** В 29 (29,6%) наблюдениях в ткани ФОНЗП зарегистрирован спектр микроРНК, характерный для злокачественных новообразований. В остальных 69 (70,4%) случаях из 98 наблюдений спектр и уровень экспрессии микроРНК соответствовали фолликулярной аденоме. Внутри сформированных подгрупп были выявлены статистически значимые различия показателей среднего количества AgNORs и соотношения между площадью клетки и количеством гранул AgNORs. **Обсуждение.** Увеличение среднего количества AgNORs и соотношения площади ядра к количеству гранул азотнокислого серебра во 2-ой подгруппе по отношению к 1-ой, а также наличие клеток II типа свидетельствует о появлении пролиферирующих опухолевых клеток в новообразовании и может рассматриваться как прогностические критерии малигнизации опухоли. Данные результаты согласуются с полученными показателями молекулярно-генетического исследования. **Заключение.** Данные литературы и полученные результаты изучения профиля и уровня экспрессии ряда микроРНК, морфометрических характеристик и подсчёт районов ядрышковых организаторов тиреоцитов могут служить в качестве дополнительных критериев оценки пролиферативной активности фолликулярного эпителия при неоплазиях щитовидной железы, в частности, для уточнения потенциала злокачественности. Диагностируемый до операции условно злокачественный вариант ФОНЗП позволит обосновать необходимость и объём хирургического вмешательства, а при выявлении комплекса критериев условно доброкачественной ФОНЗП – придерживаться выжидательной тактики и отказаться от оперативного воздействия.

Ключевые слова: фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала, микроРНК, районы ядрышковых организаторов тиреоцитов.

Для цитирования: Ильина Т.Е., Казачков Е.Л., Сергийко С.В. Предиктивная оценка уровня экспрессии микро-РНК и количества районов ядрышковых организаторов при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):74-83. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-74-83>.

PREDICTIVE ASSESSMENT OF MICRO RNA EXPRESSION LEVEL AND NUMBER OF NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS WITH FOLLICULAR THYROID TUMOR OF UNDETERMINED MALIGNANT POTENTIAL

Tat'yana E. Il'ina¹, Evgenij L. Kazachkov², Sergej V. Sergijko³

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ chlorid@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4186-8108>

² doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ ssv_1964@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6694-9030>

Abstract

Introduction This article presents the current views on follicular thyroid tumor of undetermined malignant potential (FTUMP) taking into account the principles of WHO classification. Molecular genetic study with identification of mutation of some genes as well as determination of expression level of some microRNAs are given as methods for detection of potential predictors of oncodiagnostics. It was shown that the state of nucleus organizer regions is a marker of cell proliferation rate. **The aim** of the investigation was to estimate prognostic significance of expression level of some microRNAs and amount of regions of the nucleus organizers in the thyroid tissue at FTUMP to objectify approaches to development of adequate surgical tactics. **Materials and methods** Profile, microRNA expression level by real time PCR and regions of the nucleus organizers were studied in 98 cases of FTUMP which made up 4.75% of all cases of thyroid tumors operated on during four years. **Results** In 29 (29.6%) cases the spectrum of microRNA typical for malignant neoplasms was registered in the tissue of the FTUMP. In the remaining 69 (70.4%) cases out of 98 observations the spectrum and the expression level of microRNA corresponded to the follicular adenoma. Statistically significant differences in the average number of AgNORs and correlation between the cell area and the number of AgNORs granules were found within the formed subgroups. **Discussion** Increase of the mean number of AgNORs and the ratio of the nucleus area to the number of silver nitrate granules in the 2nd subgroup in comparison with the 1st one, as well as the appearance of the type II cells testifies to the appearance of the proliferating tumor cells in a new tumor growth and can be considered as prognostic criteria of tumor malignization. These results correlate with the findings of molecular-genetic study. **Conclusion** The data of the literature and the results obtained by studying the profile and the expression level of a number of microRNAs, morphometric characteristics and counting of thyrocyte nucleus organizer regions may serve as additional criteria for evaluation of the proliferative activity of the follicular epithelium in thyroid neoplasms, in particular to clarify the malignancy potential. Preoperatively diagnosed conditionally malignant FTUMP will allow to justify the necessity and amount of surgical intervention, and if a complex of criteria of conditionally benign FTUMP is revealed, to stick to the waiting tactics and refuse surgical intervention.

Key words: follicular thyroid tumor of undetermined malignant potential, micro-RNA, thyroid nucleus organizer regions.

For citation:

Il'ina TE, Kazachkov EL, Sergijko SV. Predictive assessment of micro RNA expression level and number of nucleolar organizer regions with follicular thyroid tumor of undetermined malignant potential. Ural medical journal 2023;22(2):74-83. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-74-83>

ВВЕДЕНИЕ

Фолликулярная опухоль щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала (ФОНЗП) как нозологическая форма впервые вошла в международную классификацию новообразований эндокринных органов ВОЗ в 2017 году [1]. Для дооперационной диагностики карцином щитовидной железы в действующей редакции клинических рекомендаций предлагается тонкоигльная аспирационная биопсия с последующим цитологическим исследованием аспирата [2]. При

этом результаты цитологического исследования указывают не на конкретную нозологическую форму, а на группу процессов со сходными цитологическими критериями (цитологическая классификация Bethesda) [3]. Хирургическое удаление узла регламентировано уже при Bethesda IV, однако указывается, что при этом гистологическое исследование резектата верифицирует злокачественное новообразование лишь в 15–30% [4]. Таким образом, 70–85% оперативных вмешательств осуществляется в связи с доброкачественными опухолями

щитовидной железы либо ФОНЗП, когда активная хирургическая тактика не общепризнана целесообразной [5; 6]. Поэтому разработка путей совершенствования структурной диагностики опухолей щитовидной железы является, безусловно, актуальной задачей, особенно в аспекте получения возможности полноценной оценки потенциала злокачественности новообразования на дооперационном этапе.

Сегодня предиктивными молекулярно-генетическими факторами опухолевого роста принято считать мутации ряда генов (BRAF V600E, транслокация RET-PTC1 в гене RET и пр.) [7; 8], а также определение уровня экспрессии некоторых микроРНК [9; 10]. МикроРНК – короткие молекулы (18–24 нуклеотида, в среднем 22), регулирующие экспрессию множества генов на посттранскрипционной стадии, причём наиболее часто – подавляющие экспрессию тех генов, матричная РНК которых имеет комплементарность к последовательности этих микроРНК [11]. Согласно современным представлениям [12], микроРНК выполняют свою функцию, модулируя экспрессию эукариотических генов и ориентируясь на транскрипты, кодирующие белки, оказывающие влияние на «судьбу» клетки. *В соответствии с литературными данными [13–15], для типирования новообразований щитовидной железы возможно использование ряда микроРНК, среди которых упоминают микроРНК-146b, -199b, -221, -223, -31, -375, -451a, -551b и др.*

У отдельных микроРНК зарегистрирован ряд доминирующих функций: микроРНК-375 экспрессируется в поджелудочной железе, головном мозге и непосредственно связывает общий транскрипт гена-мишени, кодирующий миотрофин (инсулиноподобный фактор роста, белок, участвующий в слиянии гранул инсулина), который, в свою очередь, регулирует экзоцитоз и высвобождение гормонов [16].

Ряд микроРНК являются онкогенными. Так, микроРНК-221 снижает продукцию белка Kit (CD117 или рецептора фактора роста тучных и стволовых клеток), который является важным звеном в регулировании ангиогенеза и восстановлении сосудистой стенки [17]. Согласно данным Н. He et al. [18], у 5 из 10 пациентов с папиллярной карциномой щитовидной железы в окружающей ткани органа зарегистрирован высокий уровень экспрессии микроРНК-221, в связи с чем авторы расценивают микроРНК-221 в качестве маркера раннего этапа канцерогенеза щитовидной железы.

Вместе с тем ряд микроРНК характеризуются онкопротекторными свойствами. Н-р, микроРНК-199b ингибирует миграцию и инвазию раковых клеток, поэтому уровень её экспрессии значительно снижен в клетках карцином [19]. МикроРНК-551b оказывает супрессивное действие на клеточные элементы колоректального рака и карциномы желудка, вероятно, направляя клетки

этих новообразований по пути аутофагического апоптоза [20].

Экспрессия одной и той же микроРНК может иметь разнонаправленную функциональную нагрузку. Так, при карциноме молочной железы микроРНК-31 ингибирует метастазирование и способствует регрессу метастазов [21], в то время как при лёгочной карциноме и колоректальном раке эта же микроРНК действует как онкогенный фактор путём подавления специфических супрессоров опухоли [22]. Экспрессия микроРНК-451 разнонаправленно изменяется при злокачественных новообразованиях человека, что указывает на значимую роль этой микроРНК в онкогенезе [23].

С середины 80-х годов XX века в диагностической онкоморфологии стал активно применяться анализ ядрышковых организаторов путём визуального подсчёта гранул серебра в ядрышках (считается, что в интерфазных ядрах гранула серебра соответствует одному ядрышковому организатору) либо с помощью компьютерной морфометрии ядерно-ядрышкового аппарата [24–26]. Ядрышковые организаторы (англ. Nucleolus organizer regions, NOR) – участки хромосом, образующие внутри ядра клетки так называемое ядрышко. У человека ядрышковые организаторы составлены участками, расположенными на коротких плечах акроцентрических хромосом 13, 14, 15, 21, 22 и содержащими гены 45S рРНК – предшественника 5.8S, 18S, 28S рРНК. В число генов, расположенных в области организаторов рибосом, входят RUNX2, UBTF, APC [27].

Установлено, что состояние районов ядрышковых организаторов рибосом (AgNORs) является маркером скорости клеточной пролиферации, поскольку AgNORs участвуют в регуляции митотического цикла [28]. В другом исследовании [29] обнаружено нарастающее изменение параметров ядер и количества AgNORs при сравнении одноимённых показателей нормальной щитовидной железы и фолликулярной аденомы, а также при сравнении изучаемых значений при дифференцированной фолликулярной и анапластической карциноме.

Таким образом, несмотря на обширные научные источники, отражающие структурные изменения щитовидной железы при её опухолевом поражении, в доступной литературе нам не удалось обнаружить исследований, посвящённых прогностическим морфологическим особенностям ФОНПЗ. Полагаем, что установление предиктивных факторов опухолевой прогрессии от ФОНПЗ к фолликулярной карциноме щитовидной железы сможет повысить роль патологоанатома до ключевой в диагностическом процессе и существенно повлиять на выбор адекватной лечебной тактики.

Цель исследования – оценить прогностическую значимость уровня экспрессии некоторых микроРНК и количества районов ядрышковых организаторов в ткани щитовидной железы при ФОНПЗ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведен ретроспективный анализ протоколов гистологического исследования операционного материала от 3960 пациентов, которым было проведено хирургическое лечение различных тиреоидопатий в 2018–2021 гг. на базе тиреоидного центра ГАУЗ ГKB №1 г. Челябинска. Из них 2063 больных прооперированы по поводу опухолевой патологии щитовидной железы. В этой группе в 98 случаях (группа исследования) двумя независимыми патологоанатомами была диагностирована ФОНПЗ с учётом верификации морфологических критериев новообразования [1], что составило 4,75% всей хирургической опухолевой патологии за данный период времени.

Критерии включения в группу исследования: узловое инкапсулированное новообразование щитовидной железы фолликулярного строения, с сомнительной капсулярной и/или сосудистой инвазией, отсутствие изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы, наличие в архиве патологоанатомического отделения ГАУЗ ГKB №1 г. Челябинска микропрепаратов и/или парафиновых блоков, информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати. **Критерии не включения:** достоверная капсулярная и/или сосудистая инвазия, наличие изменений ядер, характерных для папиллярной карциномы, отсутствие в архиве патологоанатомического отделения ГАУЗ ГKB №1 г. Челябинска микропрепаратов и/или парафиновых блоков, отсутствие информированного согласия на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

На основе результатов ретроспективного гистологического изучения микропрепаратов группы исследования из архива парафиновых блоков выбирали один с наибольшим размером тканевого фрагмента не менее 1 см, который соответствовал наиболее характерной микроскопической картине ФОНПЗ. С отобранных 98 парафиновых блоков делали срезы толщиной 5 мкм и после депарафинирования окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике [30]. При помощи цифрового гистосканера AperioCS2 (USA) с каждого микропрепарата было получено по одному изображению для последующего морфометрического исследования.

Изучение профиля микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени выполнена на базе ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии» СО РАН г. Новосибирска с формированием на основе полученных результатов внутри группы исследования двух подгрупп, различающихся по предиктивным потенциалам. Для анализа спектра и уровня экспрессии микроРНК поэтапно проводили депарафинизацию материала с использованием минерального масла, экстракцию РНК, реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном вре-

мени. Был исследован ряд микроРНК, на основании литературных данных [13–15], позволяющий провести дифференциальную диагностику между фолликулярноклеточными неоплазиями (карциномами и аденомами). Нормировку содержания микроРНК проводили с учётом среднего содержания трех референсных микроРНК (-146b, -221, -375) с помощью запатентованных методов [31, 32]. Исследование заканчивалось составлением заключения о наличии и типе новообразования щитовидной железы. Это заключение базировалось на комплексном критерии, который рассчитывался на основе средних значений уровней экспрессии микроРНК в тканях щитовидной железы в норме и при разных типах её новообразований: доброкачественное узловое образование (аденома), злокачественное узловое образование, включающее папиллярный, фолликулярный, медуллярный, Гюртле-клеточный рак.

Далее на отсканированных микропрепаратах ФОНПЗ были изучены некоторые морфометрические показатели (площадь ядра и площадь клетки, периметр ядра и периметр клетки, наибольший и наименьший размер ядра, наибольший и наименьший размер клетки) с помощью автоматизированного алгоритма подсчета QuPath (USA) [33] (рис. 1). Во всех случаях выбиралось наиболее информативное поле зрения микропрепарата, в котором подсчитывали каждый из анализируемых морфометрических параметров на 200 клеток.

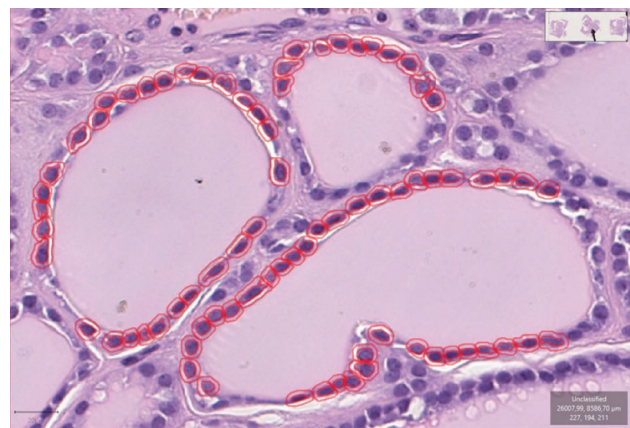


Рис. 1. Рабочий этап изучения морфометрических показателей опухолевых клеток с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 1000$.

Для выявления ядрышковых организаторов был использован метод импрегнции гистологических срезов 50% коллоидным раствором нитрата серебра по J. Crocker [34, 35]. Для этого депарафинированные срезы инкубировали 45 минут в свежеприготовленном 50% коллоидном растворе нитрата серебра во влажной камере в темноте, обезживали и без докраски заключали в бальзам. Учет реакции проводился в 100 эпителиоцитах новообразования при увеличении $\times 1000$ с

масляной иммерсией и зеленым светофильтром, редуцирующим хромосомные абберации, при помощи микроскопа Zeiss Primo Star (Germany).

В зависимости от топики районов ядрышковых организаторов и в соответствии с рекомендациями J. Crocker et al. [36], клетки подразделяли на 3 типа: I тип – выявляются целиком прокрашенные ядрышкам или гранулы серебра только внутри ядрышек (покоящиеся клетки); II тип – гранулы серебра как внутри ядрышек, так и свободно диспергируемые по ядру (пролиферирующие клетки); III тип – множественные свободно лежащие в ядре депозиты серебра различных размеров и форм, ядрышки не дифференцируются (злокачественные клетки).

При подсчете AgNORs (рис. 2) с помощью компьютерной программы QuPath определяли общее количество гранул, плотность гранул и их расположение: внутриядрышковое и внеядрышковое. Общую площадь и плотность областей ядрышковых организаторов определяли дважды в 30 полях зрения, выбранных произвольно.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 23 (оценка нормальности распределения посредством критерия Колмогорова-Смирнова, расчет для количественных величин средних значений – Me [25%-75%]). Признаки, распределение которых отличались от нормального, представили в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов с использованием критерия Манна-Уитни; для сравнения в более чем двух независимых группах применяли критерий Краскала-Уоллиса. При оценке качественных показателей вычисляли фактические и процентные частоты наблюдений (n, %). Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0,05. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [37].

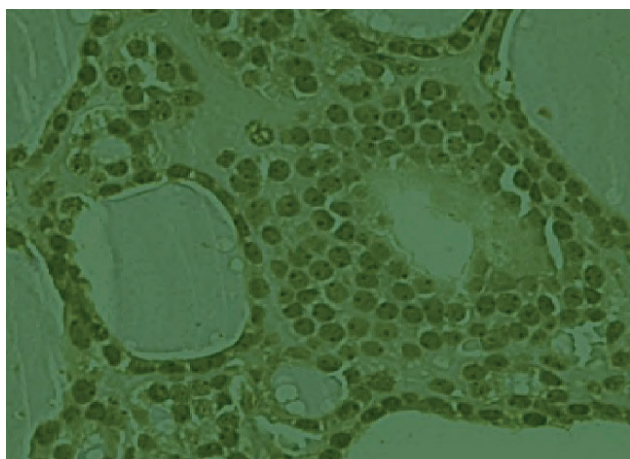


Рис. 2. Определение AgNORs в клетках I типа с применением автоматизированного алгоритма подсчета QuPath. Окраска – импрегнация 50 % коллоидным раствором серебра, зеленый светофильтр; $\times 1000$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведен углублённый морфологический и морфометрический анализ удалённых фрагментов опухоли щитовидной железы, верифицированной как ФОНЗП, в 98 наблюдениях из 2063 пациентов, прооперированных в связи с новообразованиями этого органа, что составило 4,75% (группа исследования). Среди больных было 11 (11,2%) мужчин и 87 (88,8%) женщин, их средний возраст составил 54,3[42–66] лет.

Проведенный анализ спектра и уровня экспрессии микроРНК с учётом их референсных значений [35, 36] показал, что в 29 (29,6 %) из 98 наблюдений ФОНЗП в ткани щитовидной железы зарегистрировано повышение уровня экспрессии микроРНК-146bm3 ($> -1,12$), микроРНК-375m4 ($> -10,04$), микроРНК-221m2 ($> -1,11$), микроРНК-7m2 ($> 4,8$ и $< -27,79$), микроРНК-145 ($> -2,475$), что соответствовало спектру микроРНК, характерному для злокачественных новообразований. Из них в 18 случаях уровень экспрессии микроРНК указывал на молекулярно-генетический профиль, ассоциированный с фолликулярной карциномой щитовидной железы, в 6 – с папиллярной карциномой, в 5 наблюдениях – с онкоцитарной (Гюртле-клеточной) опухолью.

В остальных 69 (70,4%) из 98 наблюдений ФОНЗП спектр и уровень экспрессии микроРНК не был характерен для злокачественной опухоли, а соответствовал молекулярно-генетическому профилю фолликулярной аденомы щитовидной железы.

Таким образом, анализ установленных различий в уровне экспрессии микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени позволил сформировать в группе исследования из 98 наблюдений ФОНЗП две подгруппы, отличающиеся по характеру прогноза течения заболевания: *потенциально доброкачественные ФОНЗП* (1-я подгруппа, 69 наблюдений) и *потенциально злокачественные ФОНЗП* (2-я подгруппа, 29 наблюдений). Дальнейшие сравнительные морфометрические исследования некоторых показателей опухоли проводили в этих подгруппах (табл. 1).

Во 2-й подгруппе (условно злокачественных новообразований) отмечена тенденция к некоторому увеличению размеров ФОНЗП, средних показателей площади, периметра, наибольшего размера ядер опухолевых клеток, а также средних значений площади, периметра, наименьшего размера самих клеток по сравнению с одноимёнными параметрами условно доброкачественных новообразований 1-й подгруппы (табл. 1). Однако статистически значимых отличий между морфометрическими показателями в сравниваемых подгруппах выявлено не было.

Таблица 1.

Сравнительная количественная характеристика некоторых параметров потенциально доброкачественных (1-я подгруппа) и потенциально злокачественных (2-я подгруппа) ФОНЗП

Морфометрические показатели	Me [25%-75%]		p=
	1-я подгруппа, n = 69	2-я подгруппа, n = 29	
Размер опухоли, мм	25,0 [13,5-34,0]	27,0 [18,5-49,0]	0,13
Площадь ядра, мкм ²	29,8 [26,3-35,0]	32,0 [26,4-35,0]	0,96
Периметр ядра, мкм	21,3 [20,3-23,2]	22,4 [20,5-23,2]	0,75
Наибольший размер ядра, мкм	7,9 [7,4-8,7]	8,1 [7,7-8,6]	0,40
Наименьший размер ядра, мкм	5,3 [4,8-5,7]	5,4 [4,8-5,7]	0,74
Площадь клетки, мкм ²	81,1 [67,5-100,5]	97,3 [68,2-110,9]	0,60
Периметр клетки, мкм ²	33,8 [30,4-38,1]	36,6 [30,4-40,2]	0,54
Наибольший размер клетки, мкм	0,87 [0,85-0,89]	0,87 [0,84-0,88]	0,35
Наименьший размер клетки, мкм	8,9 [8,0-9,8]	9,6 [7,6-10,4]	0,55
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,40 [0,33-0,44]	0,37 [0,31-0,42]	0,20

Морфометрическое изучение районов ядрышковых организаторов в клетках ФОНЗП выполнено в 20 образцах этого новообразования (по 10 наблюдений из каждой подгруппы) путём импрегнации срезов 50% коллоидным раствором нитрата серебра с помощью автома-

тизированного алгоритма подсчета QuPath. Для этого рассчитывалась средняя площадь ядра, среднее количество ядрышек, среднее количество ядрышек на ядро, средняя площадь ядрышек, отношение площади ядра к площади ядрышек (табл. 2).

Таблица 2.

Сравнительная количественная характеристика районов ядрышковых организаторов в опухолевых клетках потенциально доброкачественных (1-я подгруппа) и потенциально злокачественных (2-я подгруппа) ФОНЗП

Морфометрические показатели	Me [25%-75%]		p=
	1-я подгруппа, n = 10	2-я подгруппа, n = 10	
Средняя площадь ядра, мкм	29,25 [27,22-35,56]	31,75 [24,50-33,53]	0,98
Среднее количество AgNORs	1,00 [1,00-1,13]	2,00 [1,75-3,00]	0,02
Соотношение: площадь ядра, мкм ² / количество AgNORs	27,7 [25,43-30,69]	15,9 [9,41-20,30]	0,01
Средняя площадь AgNORs, мкм ²	0,2532 [0,25-0,25]	0,2532 [0,25-0,51]	0,10
Соотношение: площадь ядра, мкм ² / средняя площадь AgNORs, мкм ²	115,52 [100,8-128,8]	125,39 [71,6-133,6]	0,24

В подгруппе потенциально злокачественных опухолей (2-я подгруппа) отмечено статистически значимое увеличение показателя среднего количества AgNORs и статистически значимое снижение соотношения площадь ядра / количество AgNORs в 1,74 раза по сравнению с одноимёнными параметрами образцов щитовидной железы 1-й подгруппы (табл. 2).

Большинство районов ядрышковых организаторов располагались внутри ядрышек примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. При этом в 1-й подгруппе все организаторы рибосом были расположены внутри ядрышек, имели округлую форму, ровные края, а, следовательно, с учётом рекомендаций J. Crocker et al. [38], были отнесены нами к покоящимся клетками I-го типа. В образцах 2-й подгруппы выявляли как покоящиеся клетки I-го типа (30-40%), так и клетки II-го типа (60-70%), когда гранулы серебра обнаруживали как внутри ядрышек, так и свободно лежащими в ядре вне ядрышек (пролиферирующие клетки). Клетки

III-го типа со свободно лежащими в ядре депозитами серебра без визуализации четких ядрышек в сравниваемых подгруппах не выявлялись.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами проведен ретроспективный анализ тканевых образцов щитовидной железы 98 пациентов с ФОНЗП из 2063 больных, прооперированных за четырёхлетний период по поводу опухолевой патологии щитовидной железы, что составило 4,75%. Вместе с тем по данным Y. Ito et al. [39], в Kuma Hospital города Кобе (Japan) при ретроспективном пересмотре тканевого материала оперированной щитовидной железы за 2010-2018 гг. на долю ФОНЗП пришлось 3% наблюдений.

В современной доступной литературе нам не удалось встретить исследований, указывающих на критерии выбора хирургической тактики при ФОНЗП. Полагаем, что подход к тактике ведения пациентов этой группы должен базироваться не только и не столько на клинических и лаборатор-

ных методах исследования, результаты которых зачастую неспецифичны. Принято считать, что ключом к решению проблемы ограниченных возможностей в до-операционной оценке потенциала злокачественности опухоли щитовидной железы является понимание различных генетических трансформаций опухолевой клетки, таких как точечные мутации, вставки и делеции, слияния генов, перестройки или транслокации генов [40; 41], причём микроРНК занимают в этом перечне особое место.

При дифференциальной диагностике узловых образований щитовидной железы следует иметь в виду, что для папиллярной карциномы этого органа характерна высокая экспрессия микроРНК-146b, -221, -222, -181b, -21 [42; 43], а для фолликулярного рака – экспрессия микроРНК-637, -181с-3р, -206, -7-5р [44]. При установлении отличий фолликулярной аденомы от карциномы показано, что уровень экспрессии микроРНК-197 и -346 значительно выше при фолликулярном раке [45]. D. Abraham et al. [46] отмечают высокую экспрессию микроРНК-183 и -375 в медуллярной карциноме щитовидной железы с тенденцией к метастазированию опухоли в шейные лимфоузлы и ухудшению прогноза.

Мы провели анализ спектра и уровня экспрессии ряда микроРНК (-146bm3; -375m4; -221m2; -7m2; -145) тканями ФОНЗП и получили данные о молекулярно-генетической неоднородности этой опухоли, позволившие разделить группу исследования на две подгруппы. В 70,4% из 98 наблюдений профиль микроРНК свидетельствовал о потенциально доброкачественных ФОНЗП, в 29,6% – о потенциально злокачественных опухолях этой группы. О возможности верифицировать прогностические факторы доброкачественности и злокачественности опухолей щитовидной железы на дооперационном этапе свидетельствуют и другие авторы [40, 47].

Известно, что представительство AgNORs является маркером скорости клеточной пролиферации, так как ядрышковые организаторы участвуют в регуляции митотического цикла [27]. По литературным данным [27; 28], при поражениях щитовидной железы различного характера более низкие показатели ядрышковых организаторов регистрируются при зобных изменениях органа и тиреоидитах, составляя: $2,0 \pm 0,03$ – при диффузном коллоидном зобе, $2,3 \pm 0,01$ – при узловом зобе,

$3,5 \pm 0,03$ – при пролиферирующем зобе, при разных формах аутоиммунного тиреоидита – от 1,6 до 3,2, однако при наличии карциномы щитовидной железы показатели AgNORs существенно возрастают – от 5,04 до 7,67 в зависимости от степени дифференцировки новообразования.

Полученные результаты изучения районов ядрышковых организаторов в нашем исследовании указывают на значимые различия внутри подгрупп. Увеличение среднего количества AgNORS и соотношения площади ядра к числу гранул азотнокислого серебра, а также появление клеток II типа [38] во 2-ой подгруппе наблюдений ФОНЗП, свидетельствует о возрастании пролиферативной активности клеток опухоли от условно доброкачественных к условно злокачественным. Полученные данные согласуются с результатами проведенного нами молекулярно-генетического исследования, а также демонстрируют перспективность применения данных методов исследования на до-операционном этапе диагностического процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ многочисленных публикации убедительно показал целесообразность применения морфометрических и молекулярно-генетических исследований для дифференциальной диагностики и определения степени злокачественности узловых образований щитовидной железы у пациентов с ФОНЗП. Полученные нами результаты изучения профиля и уровня экспрессии ряда микроРНК, морфометрических характеристик и подсчёт районов ядрышковых организаторов тиреоцитов могут служить в качестве основы для дополнительных критериев уточнения потенциала злокачественности посредством оценки пролиферативной активности фолликулярного эпителия при ФОНЗП. Верификация на дооперационном этапе условно злокачественного варианта ФОНЗП (по нашим данным, регистрируется на операционном материале примерно у 1/3 пациентов с данной опухолью), позволит обосновать необходимость и объём хирургического вмешательства на щитовидной железе. При выявлении комплекса молекулярно-генетических и морфометрических критериев условно доброкачественной ФОНЗП (по нашим данным, на операционном материале – до 2/3 наблюдений) обсуждается возможность использования выжидательной тактики [5; 6].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J. WHO Classification of tumours of endocrine organs. 4th ed. Lyon: IARC; 2017. pp. 65–144.
2. Hahn SY, Shin JH, Na DG et al. Ethanol Ablation of the Thyroid Nodules: 2018 Consensus statement by the Korean Society of Thyroid Radiology. *Korean J Radiol* 2019;20(4):609–620. <https://doi.org/10.3348/kjr.2018.0696>.
3. Абросимов А.Ю., Абдулхабилова Ф.М. Система классификации цитопатологии щитовидной железы Бетесда (пересмотр 2017 г.). перспективы диагностики опухолей щитовидной железы и оптимизация тактики ведения пациентов. *Новости клинической цитологии России* 2017;21(3–4):23–31.
- Abrosimov AY, Abdulkhabirova FM. The classification system of thyroid cytopathology Bethesda (revised 2017). prospects

for the diagnosis of thyroid tumors and optimization of patient management tactics. *News of clinical cytology of Russia* 2017;21(3–4):23–31. (In Russ).

4. Качко В.А., Семкина Г.В., Платонова Н.М. с соавт. Диагностика новообразований щитовидной железы. *Эндокринная хирургия* 2018;12(3):109–127. <https://doi.org/10.14341/serg9977>.

Kachko VA, Semkina GV, Abrosimov AY et al. Diagnosis of thyroid neoplasms: state of the art on 2018. *Endocrine Surgery* 2018;12(3):109–127. (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/serg9977>.

5. Костромина Е.В., Красильникова Л.А., Денискин О.Н. с соавт. Мультидисциплинарный подход в диагностике очаговых изменений щитовидной железы: учебное пособие. Санкт-Петербург; 2022. С. 89–102.

Kostromina EV, Krasilnikova LA, Deniskin ON et al. Multidisciplinary approach in the diagnosis of focal thyroid changes: textbook. Saint Petersburg; 2022. pp. 89–102. (In Russ.).

URL: https://www.niioncologii.ru/filesapi/files/luchev/Костромина_Е.В._Диагностика_изменений_ЩЖ_2022.pdf?ysclid=leqsm6dq5291557559.

6. Xu L, Zhou Y, Li Y et al. Reducing Unnecessary Biopsy of American College of Radiology Thyroid Imaging Reporting and Data System Category 4 Nodules. *J Ultrasound Med* 2021;40(2):227–236. <https://doi.org/10.1002/jum.15391>.

7. Мусаелян А.А., Лапин С.В., Назаров В.Д. с соавт. Диагностическая и прогностическая значимость выявления мутаций в генах BRAF, TERT, RAS и транслокаций RET/PTC и PAX8/PPARG в материале тонкоигольной аспирационной биопсии узлов щитовидной железы IV цитологической категории (Bethesda, 2017). *Опухоли головы и шеи* 2022;12(2):71–78. <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2022-12-2-71-78>.

Musaelyan AA, Lapin SV, Nazarov VD et al. Diagnostic and prognostic significance of detection of mutations in the genes BRAF, TERT, RAS and translocations RET / PTC and PAX8 / PPARG in the material of fine needle aspiration biopsy of thyroid nodes of the IV cytological category (Bethesda, 2017). *Tumors of the head and neck* 2022;12(2):71–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.17650/2222-1468-2022-12-2-71-78>.

8. Partyka KL, Trevino K, Randolph ML et al. Risk of malignancy and neoplasia predicted by three molecular testing platforms in indeterminate thyroid nodules on fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol* 2019;47(9):853–862. <https://doi.org/10.1002/dc.24250>.

9. Великий Д.А., Гичкун О.Е., Шевченко А.О. МикроРНК: роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, перспективы клинического применения. *Клиническая лабораторная диагностика* 2018;63(7):403–409. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-403-409>.

Velikiy DA, Gichkun OE, Shevchenko AO. microRNA: role in the development of cardiovascular diseases, prospects for clinical application. *Clinical laboratory diagnostics* 2018;63(7):403–409. (In Russ.). <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-7-403-409>.

10. Гареев И.Ф., Бейлерли О.А. Циркулирующие микроРНК как биомаркеры: какие перспективы? *Профилактическая медицина* 2018;21(6):142–150. <https://doi.org/10.17116/profmed201821061142>.

Gareev IF, Beylerli OA. Circulating microRNAs as biomarkers: what are perspectives? *Profilakticheskaya Meditsina = Preventive medicine* 2018;21(6):142–150. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/profmed201821061142>.

11. Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением. *Клиническая онкогематология* 2015;8(1):1–12. Aushev VN. MicroRNA: small molecules of great significance. *Clin Onkogematol* 2015; 8(1):1–12 (In Russ).

12. Сердюкова О.С., Титов С.Е., Малахина Е.С., Рымар О.Д. МикроРНК – перспективные молекулярные маркеры обнаружения рака в узлах щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология* 2018;14(3):140–148. <https://doi.org/10.14341/ket9774>.

Serdyukova OS, Titov SE, Malakhina ES, Rymar OD. MicroRNAs – promising molecular markers for detecting cancer in thyroid nodules. *Clinical and experimental thyroidology* 2018;14(3):140–148. (In Russ.). <https://doi.org/10.14341/ket9774>.

13. Nikiforova MN, Chiosea SI, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiles in thyroid tumors. *Endocrine Pathology* 2009;20(2):85–91. <https://doi.org/10.1007/s12022-009-9069-z>.

14. Santiago K, Wongworawat YC, Khan S. Differential microRNA-signatures in thyroid cancer subtypes. *J Oncol* 2020;2052396. <https://doi.org/10.1155/2020/2052396>

15. Shen R, Liyanarachchi S, Li W et al. MicroRNA signature in thyroid fine needle aspiration cytology applied to “atypia of undetermined significance” cases. *Thyroid* 2012;22(1):9–16. <https://doi.org/10.1089/thy.2011.0081>.

16. Baroukh NN, Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. *FEBS J* 2009;276(22):6509–6521. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07353.x>.

17. Кукава Н.Г., Шахнович Р.М., Осьмак Г.Ж. с соавт. Участие микроРНК в развитии ишемической болезни сердца. *Кардиология* 2019;59(10):78–87. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.10.n558>.

Kukava NG, Shakhnovich RM, Osmak GZh et al. The role of microRNA in the development of ischemic heart disease. *Kardiologiya = Cardiology* 2019;59(10):78–87. (In Russ.). <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.10.n558>.

18. He H, Jazdzewski K, Li W et al. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Nat Acad Sci USA* 2005;102(52):19075–19080. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509603102>.

19. Koshizuka K, Hanazawa T, Kikkawa N et al. Regulation of ITGA3 by the anti-tumor miR-199 family inhibits cancer cell migration and invasion in head and neck cancer. *Cancer Sci* 2017;108(8):1681–1692. <https://doi.org/10.1111/cas.13298>.

20. Kim KS, Jeong D, Sari IN et al. miR551b regulates colorectal cancer progression by targeting the ZEB1 signaling axis. *Cancers (Basel)* 2019;11(5):735. <https://doi.org/10.3390/cancers11050735>.

21. Valastyan S, Chang A, Benaich N et al. Activation of miR-31 function in already-established metastases elicits metastatic regression. *Genes Dev* 2011;25(6):646–659. <https://doi.org/10.1101/gad.2004211>.

22. Slaby O, Svoboda M, Fabian P et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007;72(5–6):397–402. <https://doi.org/10.1159/000113489>.

23. Pan X, Wang R, Wang ZX. The potential role of miR-451 in cancer diagnosis, prognosis, and therapy. *Mol Cancer Ther* 2013;12(7):1153–1162. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0802>.
24. Гордеев В.В., Антонов А.Г., Евсеев А.Н. с соавт. Роль компьютерной морфометрии зон ядрышкового организатора рибосом в алгоритме ведения пациентов с простатической интраэпителиальной неоплазией. *Тихоокеанский медицинский журнал* 2011;1:23–25.
Gordeev VV, Antonov AG, Evseev AN et al. The role of computer morphometry of nucleolar ribosome organizer zones in the algorithm of management of patients with prostatic intra-epithelial neoplasia. *Pacific Medical Journal* 2011;1:23–25. (In Russ.).
25. Кобяков Д.С., Бычкова Е.Ю., Авдалян А.М. с соавт. Взаимосвязь аргирофильных белков ядрышкообразующих районов с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных при немелкоклеточном раке легкого. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена* 2014;3(4):19–24.
Kobyakov DS, Bychkova EYu, Avdalian AM et al. Relationship of argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins to clinical and morphological parameters and survival in patients with non-small cell lung cancer. *P.A. Herzen Journal of Oncology* 2014;3(4):19–24. (In Russ.).
26. Akhavan A, Keith JD, Bastacky SI et al. The proportion of cores with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on extended pattern needle biopsy is significantly associated with prostate cancer on site-directed repeat biopsy. *BJU Int* 2007;99(4):765–769. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2006.06681.x>.
27. Боташева В.С., Калоева А.А., Эркенова Л.Д. Характер морфологических изменений при эндемическом зобе. *Фундаментальные исследования* 2015;1–1:36–40.
Botasheva VS, Kaloeva AA, Erkenova LD. The nature of morphological changes in endemic goiter. *Fundamental research* 2015;1–1:36–40. (In Russ.).
28. Джикаев Г.Д. Морфологические критерии диагностики хронического аутоиммунного тиреоидита. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук: 14.03.02. Волгоград, 2016. С. 92–98.
Dzhikaev G.D. Morphological criteria for the diagnosis of chronic autoimmune thyroiditis. Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences: 14.03.02. Volgograd, 2016. pp. 92–98. (In Russ.).
https://www.volgmed.ru/uploads/dsovet/thesis/1-748-dzhikaev_grigorij_davido_vich.pdf?ysclid=ldb1p26sng956556624.
29. Riischoff J, Prasser C, Cortez T et al. Diagnostic value of AgNOR staining in follicular cell neoplasms of the thyroid: comparison of evaluation methods and nucleolar features. *Amer J Surg Pathol* 1993;17(12):1281–1288. <https://doi.org/10.1097/00000478-199312000-00010>.
30. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград, 1961; С. 114–131.
Merkulov GA. Course of pathoanatomic technique. Leningrad, 1961; pp. 114–131. (In Russ.).
31. Колесников Н.Н., Титов С.Е., Ахмерова Л.Г. с соавт. Способ дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы человека. Патент RU 2569154 C1: опубл. 20.11.2015.
Kolesnikov NN, Titov SE, Akhmerova LG et al. Method of differential diagnosis of human thyroid neoplasms. Patent RU 2569154 C1: date of publication: 20.11.2015. (In Russ.).
32. Титов С.Е., Веряскина Ю.А. Способ дифференциальной диагностики узловых образований щитовидной железы человека. Патент RU 2757347 C1: опубл. 13.10.2021.
Titov SE, Veryaskina YuA. Method for differential diagnosis of nodular formations of the human thyroid gland. Patent RU 2757347 C1: date of publication: 13.10.2021. (In Russ.).
33. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* 2017;7(1):16878. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5>.
34. Crocker J, Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J Pathol* 1987;151(2):111–118. <https://doi.org/10.1002/path.1711510203>.
35. Smith PJ, Skilbeck N, Harrison A, Crocker J. The effect of a series of fixatives on the AgNOR technique. *J Pathol* 1988;155(2):109–112. <https://doi.org/10.1002/path.1711550206>.
36. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count Ag ORs? Proposals for standardized approach. *J Pathol* 1989;158(3):185–188. <https://doi.org/10.1002/path.1711580303>.
37. Ланг Т.А., Сессик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов: пер. с англ. под ред. Леонова В.П. М.: Практическая медицина; 2011. С. 64–79.
Lang TA, Sessik M. How to describe statistics in medicine. An annotated guide for authors, editors and reviewers: translated from English, edit. Leonov VP. M.: Practical Medicine; 2011, pp. 64–79. (In Russ.).
38. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count Ag ORs? Proposals for standardized approach. *J Pathol* 1989;158(3):185–188. <https://doi.org/10.1002/path.1711580303>.
39. Ito Y, Hirokawa M, Hayashi T et al. Clinical outcomes of follicular tumor of uncertain malignant potential of the thyroid: real-world data. *Endocr J* 2022;69(7):757–761. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ21-0723>.
40. Лукьянов С.А., Сергийко С.В., Ильина Т.Е. Посттранскрипционные микроРНК в диагностике и персонализации лечения больных опухолями щитовидной железы: обзор литературы. *Пермский медицинский журнал* 2022;39(5):80–92. <https://doi.org/10.17816/pmj39580%92>.
- Lukyanov SA, Sergiyko SV, Ilyina TE. Post-transcriptional microRNAs in the diagnosis and personalization of treatment of patients with thyroid tumors: literature review. *Perm Medical Journal* 2022;39(5):80–92. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/pmj39580%92>.
41. Lupo MA, Walts AE, Sistrunk JW et al. Multiplatform molecular test performance in indeterminate thyroid nodules. *Diagn Cytopathol* 2020; 48(12):1254–1264. <https://doi.org/10.1002/dc.24564>.
42. Sheu SY, Grabellus F, Schwertheim S et al. Differential miRNA expression profiles in variants of papillary thyroid

carcinoma and encapsulated follicular thyroid tumours. *Br J Cancer* 2010;102(2):376–382. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605493>.

43. Gill A, Gundara JS, Ip JC et al. MicroRNA-222 and microRNA-146b are tissue and circulating biomarkers of recurrent papillary thyroid cancer. *Cancer* 2013;119(24):4358–4365. <https://doi.org/10.1002/cncr.28254>.

44. Stokowy T, Wojtaś B, Fajarewicz K et al. miRNAs with the potential to distinguish follicular thyroid carcinomas from benign follicular thyroid tumors: results of a meta-analysis. *Horm Metab Res* 2014;46(3):171–180. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1363264>.

45. Celano M, Rosignolo F, Maggisano V et al. MicroRNAs as biomarkers in thyroid carcinoma. *Int J Genomics* 2017;2017:6496570. <https://doi.org/10.1155/2017/6496570>.

46. Abraham D, Jackson N, Gundara JS et al. MicroRNA profiling of sporadic and hereditary medullary thyroid cancer identifies predictors of nodal metastasis, prognosis, and potential therapeutic targets. *Clin Cancer Res* 2011;17(14):4772–4781. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0242>.

47. Santiago K, Wongworawat YC, Khan S. Differential MicroRNA-Signatures in Thyroid Cancer Subtypes. *J Oncol* 2020;2020(6):1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/2052396>.

Сведения об авторах:

Т.Е. Ильина – ассистент кафедры, аспирант;

Е.Л. Казачков – доктор медицинских наук, профессор;

С.В. Сергийко – доктор медицинских наук, профессор.

Information about the authors:

T.E. Il'ina – Department assistant, Postgraduate student;

E.L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;

S.V. Sergijko – Doctor of Science (Medicine), Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 8 от 20.09.2021).

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University (#8 from 20.09.2021)..

Информированное согласие В соответствии с положениями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека» (2008), все пациенты были ознакомлены с целью работы и дали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

Informed consent In accordance with the World Medical Association's Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Scientific and Medical Research Involving Human Subjects" (2008), all patients were made aware of the purpose of the work and gave informed consent to participate in the study and publish the results in the open press.

Статья поступила в редакцию 07.02.2023; одобрена после рецензирования 14.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 07.02.2023; approved after reviewing 14.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДЕНОМ ПЕРЕДНЕЙ ДОЛИ ГИПОФИЗА

Семен Венедиктович Петров¹, Яна Сергеевна Абузова², Насима Фелюровна
Гизатуллина³, Евгения Олеговна Соколова⁴

^{1, 3, 4} Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

^{1, 2, 3, 4} Межрегиональный клинико-диагностический центр, Казань, Россия

¹ Республиканский клинический онкологический диспансер, Казань, Россия

¹ semyonp@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2480-9675>

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5342-3678>

Аннотация

Введение. Клинико-морфологическая характеристика аденом гипофиза остается актуальной проблемой, имеющей большое значение ввиду поражения лиц трудоспособного возраста. Цель работы – выделение клинически-значимых морфологических и иммуногистохимических особенностей аденом гипофиза. **Материал и методы.** За период с 2020–2022 гг. исследовали операционный материал, полученный после трансназального удаления опухолей (62 случая). После стандартного гистологического исследования выполняли иммуногистохимическую верификацию гормонального статуса новообразования, определяли индекс Ki-67. В работе были использованы моноклональные ткане- и органоспецифические антитела, антитела к гормонам гипофиза. **Результаты.** Исследованы 62 аденомы: 25 у мужчин и 37 у женщин. Наиболее часто аденома гипофиза диагностирована в возрасте от 51 до 70 лет. Аденомы встречались в основном небольших и средних размеров с преобладанием супра- и латероселлярного расположения. Гормон-позитивных аденом было 41, «немых» новообразований, без признаков синтеза трофных гормонов, – 21. Среди гормон-позитивных аденом преобладали гонадотропиномы и кортикотропиномы. Индекс Ki67 на нашем материале не превышал 1–2%, что является благоприятным прогностическим фактором для низкого рецидивирования аденом. **Обсуждение.** В отличие от ранее опубликованных работ, в нашем материале преобладали гонадотропиномы и кортикотропиномы. Выделены наиболее важные в диагностическом плане маркеры, которые применены для целей повседневной морфологической верификации аденом гипофиза. **Заключение.** Особенностью работы являлось преобладание гормон-позитивных аденом небольших размеров. В то же время гормон-позитивные опухоли довольно долго не давали клинических проявлений и протекали скрытно. Низкая пролиферативность исследованных аденом являлась благоприятным прогностическим признаком.

Ключевые слова: аденомы гипофиза, морфология, иммуногистохимия.

Для цитирования: Петров С.В., Абузова Я.С., Гизатуллина Н.Ф., Соколова Е.О. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика аденом передней доли гипофиза. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):84-92. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-84-92>.

© Петров С.В., Абузова Я.С., Гизатуллина Н.Ф., Соколова Е.О., 2023

© Petrov S.V., Abuzova Y.S., Gizatullina N.F., Sokolova E.O., 2023

CLINICAL-MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF ADENOMAS OF THE ANTERIOR PITUITARY LOBE

Semen V. Petrov¹, Yana S. Abuzova², Nasima F. Gizatullina³, Evgenija O. Sokolova⁴^{1,3,4} Kazan State Medical University, Kazan, Russia^{1,2,3,4} Interregional Clinical and Diagnostic Center, Kazan, Russia¹ Republican Clinical Oncologic Dispensary, Kazan, Russia¹ semyonp@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2480-9675>⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5342-3678>

Abstract

Introduction Clinical and morphological characterization of pituitary adenomas remains a topical problem of great importance in view of lesions in persons of working age. **Purpose of work** was to identify clinically relevant morphological and immunohistochemical features of pituitary adenomas. **Material and Methods** Sixty-two adenomas were studied: 25 in men and 37 in women. Pituitary adenoma was most frequently diagnosed between 51 and 70 years of age. Adenomas were mostly of small and medium size with predominance of supra- and laterosellar location. There were 41 hormone-positive adenomas and 21 “dumb” neoplasms without signs of trophic hormone synthesis. Gonadotropinomas and corticotropinomas prevailed among hormone-positive adenomas. Ki67 index in our material did not exceed 1–2%, which is a favorable prognostic factor for low recurrence of adenomas. **Results** 62 adenomas were studied, 25 in men and 37 in women. Vast majority of adenomas were diagnosed at the age of 51 to 70 years. Adenomas mainly had small and medium size, with a predominance of supra- and laterosellar localization. Out of 62 adenomas 41 were hormone-positive, and 21 were “silent” neoplasms without signs of synthesis of trophic hormones. Among hormone-positive adenomas, most were gonadotropinomas and corticotropinomas. The Ki67 index in our material did not exceed 1–2%, which is a favorable prognostic factor for low recurrence of adenomas. **Discussion** In contrast to previously published works, gonadotropinomas and corticotropinomas prevailed in our material. The most diagnostically important markers were identified and applied for routine morphological verification of pituitary adenomas. **Conclusion** The predominance of hormone-positive adenomas of small size was a peculiarity of the work. At the same time, hormone-positive tumors had no clinical manifestations for quite a long time and were latent. Low proliferativity of the studied adenomas was a favorable prognostic sign.

Keywords: pituitary adenomas, morphology, immunohistochemistry.

For citation:

Petrov SV, Abuzova YS, Gizatullina NF, Sokolova EO. Clinical-morphological and immunohistochemical characteristics of adenomas of the anterior pituitary lobe. Ural medical journal 2023;22(2):84-92. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-84-92>

ВВЕДЕНИЕ

Аденомы передней доли гипофиза/нейроэндокринные опухоли (PitNET) - это опухолевая пролиферация гормон-продуцирующих клеток, в части случаев сопровождающаяся эндокринными нарушениями в организме. Эти новообразования составляют 16 % всех первичных опухолей головного мозга, возникают спонтанно без четко определенных факторов риска [1, 2]. В то же время до настоящего времени продолжается обсуждение роли оральных противозачаточных средств в возникновении этих опухолей у женщин.

Ежегодно в России и странах СНГ выявляется около 3 тысяч вновь заболевших человек [3, 4]. Опухоли могут вызывать клинические симптомы

двумя путями: за счет гормональной секреции и путём непосредственного сдавления/разрушения тканей, окружающих турецкое седло. Раковые опухоли передней доли гипофиза встречаются редко (0,1% всех опухолей этого органа) [5]. Мужчины и женщины болеют с одинаковой частотой. Аденома долгое время может не давать никаких симптомов, медленно прогрессирует, выявить ее на начальных стадиях возможно только при помощи тщательного диагностического обследования. Возникнуть аденома может в любом возрасте, но чаще всего от нее страдают люди работоспособного возраста. Необходимо отметить небольшой процент этих опухолей, встречающихся в детском возрасте (2% от всех гипофизарных аденом).

Описаны следующие классификационные подходы в оценке аденом гипофиза: топографоанатомический, гистологический, гистогенетический, функциональный.

Топографоанатомическая классификация аденом гипофиза включает в себя следующие новообразования: 1) эндоселлярные – опухоли, не выходящие за пределы турецкого седла; 2) эндоекстраселлярные – с распространением опухоли за пределы турецкого седла; 3) Супраселлярные – распространение опухоли в полость черепа; 4) латероселлярные – распространение опухоли в кавернозный синус и/или под твердую мозговую оболочку (ТМО), выстилающую дно средней черепной ямки; 5) инфраселлярные – рост опухоли в основную пазуху и/или в носоглотку; 6) антеселлярные – распространение в решетчатый лабиринт и/или орбиту; 7) ретроселлярные – распространение опухоли в заднюю черепную ямку, под ТМО ската [6].

По характеру гистологического строения/роста различают несколько типов аденом: а) диффузный тип, когда опухоль представлена плотно расположенными клетками овальной или полигональной формы; б) синусоидный тип, когда опухолевая ткань образована клеточными тяжами, между которыми расположены кровеносные капилляры; в) папиллярный тип, когда цилиндрический эпителий, располагаясь на узких полосках стромы, создает вид многочисленных папиллярных структур [7].

Одна из классификаций аденом гипофиза по размеру [6] включает в себя: 1) микроаденомы (наибольший диаметр до 10 мм, нет изменений размеров турецкого седла); 2) небольшие аденомы (16 – 25 мм); 3) средние (26 – 35 мм); 4) большие (36 – 59 мм); 5) гигантские (больше 60 мм). В классификации ВОЗ различают только микро- (наибольший диаметр до 10 мм) и макро-аденомы гипофиза (диаметром более 1 см) [2].

До недавнего времени аденомы гипофиза из-за способности по-разному окрашиваться гематоксилином и эозином, ШИК-реакцией и другими гистохимическими методами подразделялись на ацидофильные, базофильные, хромофобные и смешанные. Однако эта классификация не имела большого практического значения для онкоморфолога, так как не получено существенной корреляции морфологии клеток с гормональной активностью аденомы и клинической картиной заболевания.

С 1995 года используется классификация аденом гипофиза, ориентированная на гормональную активность опухоли и соответствующую терминологию (например, соматотропинома, пролактинома и т.д.). Такое деление аденом стало возможным благодаря использованию методов иммуногистохимии. Согласно этой классификации различают СТГ-, АКТГ-, ФСГ-, ГТГ-, ЛГ-, ТТГ- вырабатывающие аденомы, пролактиному, смешанные типы аденом и гормонально - неактивные опухоли. Несколько

позже была представлена классификация аденом гипофиза, объединяющая радиологические и гистологические характеристики инвазивности и пролиферативной активности опухолей [8]. В качестве основных критериев агрессивного поведения опухоли предложены инвазия в кавернозные синусы и наличие двух из трех морфологических признаков (индекс Ki-67 3% и более 2 митозов на 10 полей зрения при большом увеличении (HPF); иммунореактивность p53). На основании этих критериев опухоли гипофиза автором разделены на три класса: 1-й класс – неинвазивные, 2-й класс – инвазивные и 3-й класс – метастатические новообразования (карциномы) [8].

В последние годы в онкоморфологии особое внимание уделяется анализу иммуногистохимических маркеров нового класса — транскрипционных факторов (или факторов транскрипции, ТФ). Так, например, гипофизарный фактор транскрипции-1 (Pit-1) выявлен в соматотропиноме, T-box фактор транскрипции TPIT, а также GATA2 обнаружены в кортикотропиноме, рецепторы эстрогенов (ER α) в пролактиноме, стероидогенный фактор-1 (SF-1) в гонадотропиноме [1, 2, 9]. Использование ТФ позволяет определить клеточную линию в гормонально неактивных и активных опухолях, а также более аккуратно верифицировать тип аденомы [2].

Таким образом, к настоящему времени исследование аденом гипофиза остается актуальной проблемой, имеющей важное значение ввиду поражения мужчин и женщин трудоспособного возраста.

Цель работы – выделение клинически-значимых морфологических и иммуногистохимических особенностей аденом гипофиза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Операционный материал получен после эндоскопического эндоназального удаления опухолей в отделении нейрохирургии Межрегионального клинко-диагностического центра, г. Казань. Проведено сплошное статистическое наблюдение за 3 года (период с 2020–2022 гг.). Всего было исследовано 62 аденомы: 25 у мужчин и у 37 женщин. В 2020 году исследовалось 23 случая аденом гипофиза, из них 9 случаев у мужчин (39%) и 14 случаев у женщин (61%). В 2021 году исследовалось 28 случаев аденом гипофиза, из них 13 случаев мужчин (46%) и 15 случаев женщин (54%). В 2022 году исследовалось 11 случаев аденом гипофиза, из них 3 мужчин (27%) и 7 женщин (63%).

Фиксация материала осуществлялась в забуференном формалине в течение не более 24 часов с последующим изготовлением парафиновых блоков. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Во всех случаях выполнялась иммуногистохимическая верификация гормонального статуса новообразования с обязательной оценкой индекса Ki-67. Использовались моноклональные антитела фирмы DAKO к соматотропному гормону (СТГ), про-

лактину, адренокортикотропному гормону (АКТГ), фолликулостимулирующему гормону (ФСГ), лютеотропному гормону (ЛГ), тиреотропному гормону (ТТГ). Применяли также антитела к нейрон-специфической энзиме (NSE), кислом глиальному фибриллярному белку (КГФБ), синаптофизину, хромогранину-А, цитокератинам (ЦКР) широкого спектра, клон MNF116, ЦКР высокой молекулярной массы клон 34бетаЕ12, ЦКР №8, эпителиальному мембранному антигену (ЭМА), белку S100 (поликлональные антитела).

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с помощью программ Microsoft Excel 2007 и Biostatistica (S.A. Glantz, McGraw Hill, США).

Исследования выполнялись в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы научных и медицинских

исследований с участием человека» и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди больных преобладали женщины (60%), что расходится с большинством литературных данных. Наиболее часто аденома гипофиза встречалась в возрасте от 51 до 70 лет (77% за 3 года), в меньшем количестве – в возрасте от 31 до 50 лет (58% за 3 года), в редких случаях новообразования наблюдались в возрасте от 21 до 30 лет (10,35% за 3 года) и старше 71 года (6,75% за 3 года), что соответствует средним статистическим данным по возрастным критериям возникновения аденом гипофиза. В результате исследования размеры большинства опухолей оказались небольшими (табл. 1).

Таблица 1.

Распределение аденом гипофиза по размерам

Размер	Число и доля аденом					
	2020		2021		2022	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Микроаденомы – до 10 мм	2	8,6	6	23	3	27,3
Небольшие размеры – 16-25 мм	10	43,5	7	27,0	6	54,7
Средние размеры – 26-35 мм	7	30,5	8	30,8	1	9
Больших размеров – 36-59 мм	4	17,4	4	15,4	1	9
Гигантские – более 60 мм	-		1	3,8	-	
Всего	23	100	26*	100	11	100

* в 2 случаях МРТ предоперационного не было

По локализации аденом полученные данные распределились следующим образом (табл.2).

Таблица 2.

Распределение аденом по локализации в турецком седле

Расположение	Число и доля аденом					
	2020		2021		2022	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Эндоселлярное	1	4,3	3	11,5	2	18,1
Эндокстраселлярное	2	8,6	4	15,3	-	-
Супраселлярное	11	47,8	15	57,6	3	27,2
Латероселлярное	9	39,1	4	15,3	6	54,5
Всего	23	100	26	100	11	100

Таким образом, в исследованном материале встречались в основном аденомы небольших и средних размеров, но при этом с преобладанием супра- и латероселлярного расположения, что объясняет длительное скрытое протекание аденом без клинических проявлений и возникновении жалоб при сдавлении хиазмальных путей и поражении кавернозного синуса. Карцинома гипофиза не встречалась.

По нашим данным за исследуемый период с 2020 по 2022 гг. были диагностированы гормон-активные аденомы среди 66,1% пациентов, среди которых в 2020 году они были обнаружены у 7 мужчин (30,4%) и у 9 женщин (39,1%), в 2021 году

– у 6 мужчин (21,4%) и 11 женщин (39,2%), в 2022 году – у 3 мужчин (27,2%) и 5 женщин (45,4%), что говорит о преобладании гормон-продуцирующих опухолей у женщин (66,1%).

Остальные аденомы (21 наблюдение из 62 исследуемых случаев) были гормон-неактивными (33,9%). Считается, что «немые» соматотропиномы имеют больший размер и тенденцию к инвазивному росту [10, 11]. Некоторые из них проявляют черты агрессивного течения со множеством рецидивов и устойчивы к лечению темодалом [4, 12]. По результатам исследования операционного материала гормон-позитивные опухоли распределились следующим образом (табл. 3).

Таблица 3.

Динамика встречаемости различных аденом

Вид аденом	Число и доля аденом					
	2020		2021		2022	
	абс	%	абс	%	абс	%
Всего аденом	23	100	28	100	11	100
Всего гормон-неактивных аденом	7	30,4	11	39,3	3	27,3
Всего гормон-активных аденом	16	69,6	17	60,7	8	72,7
Гонадотропиномы	7	43,75	9	32,1	4	50
Кортикотропиномы	4	25	2	11,7	2	25
Соматотропиномы	3	18,7	2	11,7	1	12,5
Пролактиномы	2	12,5	-	-	1	12,5
Смешанные аденомы	-	-	4	17,6	-	-

Необходимо отметить тот факт, что аденомы гипофиза не разделяются по формальным критериям степени злокачественности (Grade), которые общеприняты для нейроэндокринных опухолей легкого и желудочно-кишечного тракта, а также для глиальных опухолей центральной нервной системы [2].

После многочисленных поисков прогностических морфологических маркеров течения аденомы эксперты ВОЗ остановились на числе митозов и индексе Ki-67 [2, 13, 14, 15, 16]. По результатам исследования гонадотропином на операционном материале индекс Ki67 не превышал 1–2%, что является благоприятным прогностическим фактором

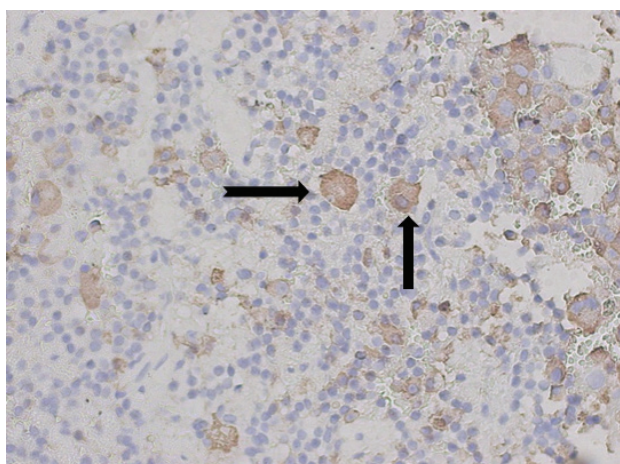


Рис. 1. Позитивная иммуногистохимическая реакция с антителами к соматостатину в части опухолевых клеток. Иммунопероксидазный метод с диаминобензидином в качестве хромогена. Увеличение $\times 400$.

Из 62 изученных нами аденом 11 опухолей были рецидивными (17,7% всех случаев за 2020–2022гг.). В 2 случаях рецидивные аденомы были гормон-негативны, в 3 случаях наблюдались кортикотропиномы и гонадотропиномы, в 1 случае пролактинома и в 5-ти наблюдениях - смешанная аденома.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные многочисленные исследования с различными cito- и тканеспецифическими маркерами позволили систематизировать иммуногистохимические особенности аденом гипофиза и выделить наиболее важные в диагностическом плане

для низкого рецидивирования аденом.

По нашим данным аденомы гипофиза с иммунофенотипом соматотропиномы (рис. 1) в 5 случаях клинически сопровождалась акромегалией с увеличением сыровоточного уровня СТГ и ИФР-1. Кортикотропиномы (рис. 2) в 3 случаях у женщин были связаны с приемом оральных контрацептивов, при этом в крови отмечалось повышение уровня пролактина, кортизола, АКТГ, а в 1 случае был выставлен клинический диагноз болезни Иценко-Кушинга. В 5 случаях гормон-позитивные по данным иммуногистохимии опухоли гипофиза в клинике не вызвали изменения сыровоточного уровня гормонов.

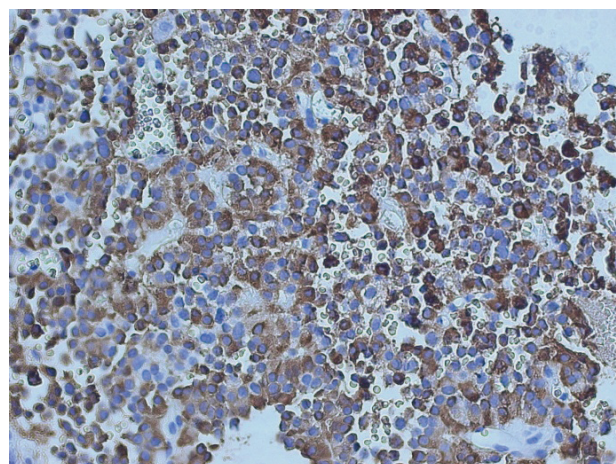


Рис. 2. Позитивная иммуногистохимическая реакция с антителами к аденокортикотропному гормону в большинстве опухолевых клеток. Иммунопероксидазный метод с диаминобензидином в качестве хромогена. Увеличение $\times 400$.

маркеры.

Из белков промежуточных филаментов положительная реакция опухолевых клеток выявляется чаще всего при исследовании цитокератинов. Причем иммунореактивность клеток не зависит от типа их гормональной активности. Чаще используют моноклональные антитела к ЦКР №8, №18 по каталогу Молла, которые окрашивают более 90% опухолей [15]. Моноклональные антитела к кислому глиальному фибриллярному белку дают позитивную реакцию в единичных клетках опухолей, что отличает их от опухолей задней доли гипофиза. Большинство новообразований аденогипофиза показывает негативную реакцию на другие белки

промежуточных филаментов: виментин, нейрофиламенты, десмин. Белок S-100 выявляется в виде слабой положительной реакции в единичных опухолевых клетках вне зависимости от варианта опухоли. Эпителиальный мембранный антиген выявляется в половине аденом, что следует учитывать при расширении панели антител, используемых для первичной морфологической верификации новообразований неясного гистогенеза.

Практически всегда наблюдается выраженная реакция неопластических клеток на нейрон-специфическую энolahу и белок синаптических везикул – синаптофизин. Иммуногистохимическая реакция на эти маркеры не зависит от степени и характера гормональной активности опухоли и выявляется преимущественно в виде цитоплазматической зернистости.

Хромогранин А в различных аденомах выявляется неравномерно. Монофункциональные соматотропиномы и пролактиномы реагируют на данный маркер негативно, в то время как смешанные полифункциональные аденомы, в которых преобладающим компонентом является продукция СТГ, в большинстве клеток дают положительную реакцию. Все ФСГ-, ЛГ-продуцирующие аденомы и гормонально неактивные опухоли являются хромогранин А позитивными.

Использование МКАТ к гормонам аденогипофиза помогает не только максимально точно диагностировать аденому гипофиза, но и определить характер ее гормональной активности [2, 6, 12]. Для решения вопроса адекватного лечения аденом, необходимо знать функциональное разделение аденом гипофиза по тому гормону, который продуцируется опухолью.

Считается, что соотношение гормон - позитивных к гормон - негативным аденомам составляет 60% к 40%. В нашем материале преобладали гонадотропиномы и кортикотропиномы, в то время как в литературе утверждается, что из всех гормонально - активных аденом наиболее часто встречаются пролактиномы (в 40–50% случаев) и гонадотропиномы (в 25–30%). С одинаковой частотой (10–15%) выявляются СТГ-продуцирующие опухоли и кортикотропиномы. Значительно реже наблюдаются ТТГ-вырабатывающие опухоли (менее 2%). Большинство опухолей аденогипофиза являются смешанными и способны продуцировать более одного гормона, хотя по клиническим проявлениям может преобладать выработка какого-либо одного гормона [8, 9, 11, 14, 15]. К примеру, у пациентов с акромегалией довольно часто (35–71%) выявляется высокий уровень пролактина в сыворотке крови. Также нередко при пролактиноме в крови обнаруживают высокий уровень СТГ (86–96 %). Значительно

реже находят сочетание этих вариантов аденом с АКТГ-, ФСГ-, ЛГ-, ТТГ-продуцирующими опухолями. Очень частым является сочетание ФСГ-, ТТГ- и ЛГ-вырабатывающих аденом.

Клинически неактивные аденомы могут по-разному проявлять свои иммуногистохимические свойства: в большинстве случаев в гормон неактивных опухолях клетки не реагируют с моноклональными антителами к гормонам, либо выявляется слабо положительная реакция в единичных клетках [2, 4, 5, 10, 16–19, 20–22]. Иногда обнаруживается высокая иммунореактивность клеток при отсутствии каких-либо клинических проявлений опухоли и низком содержании гормонов в сыворотке крови [12, 16, 18, 23, 24]. Объяснением этому факту могут служить изменения экспрессии специфических факторов транскрипции аденогипофиза, трансляционные и посттрансляционные дефекты синтеза гормонов в аденоме, изменения процессов «упаковки» в аппарате Гольджи, нарушенное высвобождение гормонов из клеток опухоли, секреция биологически неактивных форм гормона или его предшественника [10, 25, 26, 27, 28]. Пролактиномы у мужчин чаще имеют инвазивный рост и более устойчивы к антагонистам дофамина, чем такие же опухоли у женщин [3].

Рецидивы аденом и, особенно, метастазирование (а это уже злокачественная опухоль, т.е. нейроэндокринноклеточный рак, НЭК) встречаются редко. Если они имеют место, то это чаще АКТГ или пролактин-вырабатывающие или гормон-неактивные опухоли. Рецидивы и метастазы опухолей гипофиза часто сопровождаются изменением функциональной специализации: опухоль начинает вырабатывать другие гормоны, отличные от исходной опухоли [2, 5, 7, 13, 16, 23]. Это объясняется мультигормональностью большинства опухолей гипофиза, либо активацией иного гормон - образующего клона [29].

Некоторое время назад в оборот онкоморфологов был введен термин плотно- и редко-гранулированные аденомы, отличающиеся типом распределения цитоплазматических белков-цитокератинов [2, 15]. Плотно-гранулированные опухоли при использовании моноклональных антител к цитокератинам «простых» эпителиев № 8, № 18 дают диффузное цитоплазматическое (рис. 3.) или перинуклеарное окрашивание. Редко-гранулированные аденомы окрашиваются в виде «dot-like», «Golgi like» реакции или т.н. «фиброзных телец» (рис. 4). Объяснением этому феномену может служить аналогия с алкогольным гиалином в гепатоцитах, который на электронно-микроскопическом уровне является очаговым агрегатом белков промежуточных филаментов, состоящих из цитокератинов.

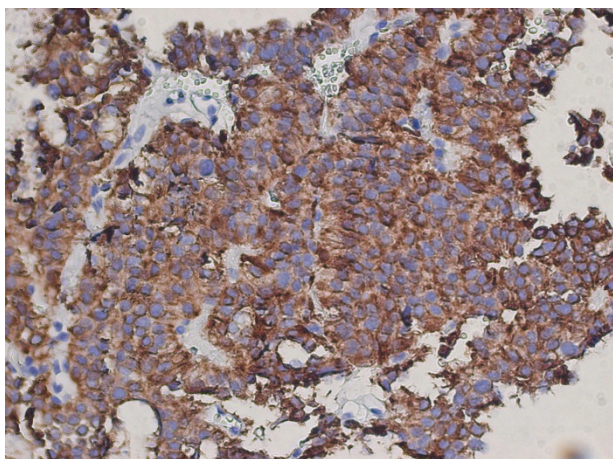


Рис. 3. Позитивная равномерная цитоплазматическая иммуногистохимическая реакция с антителами к цитокератину № 8 во всех опухолевых клетках. Иммунопероксидазный метод с диаминобензидином в качестве хромогена. Увеличение $\times 400$.

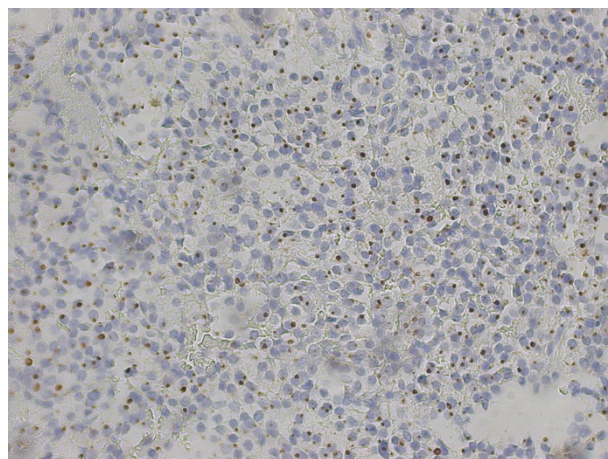


Рис. 4. Иммуногистохимическая реакция с антителами к цитокератину № 8 в виде перинуклеарных пятен "dot-like" во многих опухолевых клетках. Иммунопероксидазный метод с диаминобензидином в качестве хромогена. Увеличение $\times 400$.

Иммуногистохимия позволяет выявить степень гранулярности цитоплазмы клеток, что, по мнению ряда исследователей, имеет важное прогностическое значение: есть наблюдения, позволяющие утверждать, что опухоли со слабо выраженной гранулярностью (гистологический вариант хромофобный) являются прогностически неблагоприятным вариантом, в то время как аденомы с выраженной гранулярностью имеют более благоприятное течение [2, 5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Преобладание в нашем материале гормон-по-

зитивных аденом небольших размеров является особенностью работы. В то же время гормон-позитивные опухоли клинических проявлений довольно долго не давали и протекали скрытно. Низкая пролиферативность исследованных аденом являлась благоприятным прогностическим признаком. Иммуногистохимический анализ является важным дополнительным методом для оценки гормонального статуса и прогноза аденом гипофиза.

Несмотря на ряд исключений, иммуногистохимический метод в настоящее время является решающим при дифференциальной диагностике опухолей аденогипофиза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J. WHO classification of tumours of endocrine organs. 4th ed. Lyon: IARC; 2017.
2. Central nervous system tumours. WHO classification of tumours. Lyon (France): IARC; 2021. 4th ed., vol.6.
3. Дедов И.И., Вакс В.В. Клиническая нейроэндокринология. Москва ; 2011. С. 170–204.
Dedov II, Vaks VV. Clinical neuroendocrinology. Moscow ; 2011.pp. 170–204.
4. Липатенкова А.К., Дзеранова Л.К., Пигарова Л.К. с соавт. «Немые» аденомы гипофиза: обзор литературы и описание серии клинических случаев. Ожирение и метаболизм 2015;12(2):40–46.
Lipatenkova AK, Dzeranova LK, Pigarova EA et al. Silent pituitary adenomas: review and clinical cases. *Obesity and metabolism* 2015;12(2):40–46. (In Russ.).
5. Lenders N, McCormack A. Malignant transformation in non-functioning pituitary adenomas (pituitary carcinoma). *Pituitary* 2018; 21(2):217–229. <https://doi.org/10.1007/s11102-017-0857>.
6. Asa SL. Tumors of the Pituitary Gland. Fascicle 15, 4th Series. The Atlas of Tumor Pathology. Armed Forces Institute of Pathology. Washington DC. 2011; pp. 340–350.
7. Lopes MBS. The 2017 World Health Organization classification of tumors of the pituitary gland: a summary. *Acta Neuropathol* 2017;134(4):521–535. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1769-8>.
8. Trouillas J, Roy P, Sturm N et al. A new prognostic clinicopathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case-control study of 410 patients with 8 years postoperative follow-up. *Acta Neuropathol* 2013;126(1):123–135. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1084-y>.
9. Sjostedt E, Bollerslev J, Mulder J et al. A specific antibody to detect transcription factor T-Pit: a reliable marker of corticotroph cell differentiation and a tool to improve the classification of pituitary neuroendocrine tumours. *Acta Neuropathol* 2017;134(4):675–677. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1768-9>.
10. Еремкина А.К., Дзеранова Л.К., Пигарова Е.К. с соавт. Морфофункциональные особенности гормонально-неактивных аденом гипофиза. Архив патологии 2019;81(1):71–78. <https://doi.org/10.17116/patol2019810171>.
Eremkina AK, Dzeranova LK, Pigarova EK et al. Morphofunctional features of non-functioning pituitary adenomas. *Archive of pathology* 2019;81(1):71–78. (In Russ.).
11. Астафьева Л.И., Марова Е.И., Кадашев Б.А., Коршунов А.Г. Сравнительное исследование пролактинсекретирующих и гормонально-неактивных аденом гипофиза у больных с умеренной гиперпролактинемией. Проблемы

эндокринологии 2006;(3):30–33.

Astafyeva LI, Marova YI, Kadashev BA, Korshunov AG. Comparative study of prolactin-secreting and hormonally inactive pituitary adenomas in patients with moderate hyperprolactinemia. *Problems of Endocrinology* 2006;52(3):30–33. . (In Russ.).

12. Ротин Д.Л., Астафьева Л.И., Кадашев Б.А. с соавт. Гормонально-неактивная аденома гипофиза. Морфологическая, иммуногистохимическая и электронно-микроскопическая характеристика. Архив патологии 2012;(2):6–9.

Rotin DL, Astaf'eva LI, Kadashev BA et al. Hormonally inactivated pituitary adenoma: morphological, immunohistochemical and electron-microscopic characteristic. *Archive of pathology* 2012;(2):6–9. . (In Russ.).

13. Raverot G, Dantony E, Beauvy J et al. Risk of recurrence in pituitary neuroendocrine tumors: a prospective study using a five-tiered classification. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102(9):3368–3374. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00773>.

14. Лапшина А.М., Марова Е.И. Оценка биологического поведения АКТГ-секретирующих опухолей гипофиза при помощи различных методов. Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко 2015;79(6):107114. <https://doi.org/10.17116/neiro2015796107-114>.

Lapshina AM, Marova EI. Evaluation of the biological behavior of ACTH-secreting pituitary tumors using various methods. *Issues of N.N. Burdenko Neurosurgery = Voprosy Neurokhirurgii Imeni N.N. Burdenko* 2015;79(6):107114.

15. Obari A, Sano T, Ohyama K et al. Clinicopathological features of growth hormone-producing pituitary adenomas: difference among various types defined by cytokeratin distribution pattern including a transitional form. *Endocr Pathol* 2008;19(2):82–91. <https://doi.org/10.1007/s12022-008-9029-z>.

16. Пржиялковская Е.Г., Абросимов А.Ю., Григорьев А.Ю. Прогностическое значение экспрессии Ki-67, CD31 и VEGF в соматотропиномах. Архив патологии 2010;(1):35–38.

Przhiyalkovskaya EG, Abrosimov AI, Grigoriev AY. Prognostic value of the expression Ki-67, CD31, and VEGF in somatotropinomas. *Archive of pathology* 2010;(1):35–38. (In Russ.).

17. Asa SL, Casar-Borota O, Chanson P et al. From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): an International Pituitary Pathology Club proposal. *Endocr Relat Cancer* 2017;24(4):5–8. <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0004>.

18. Липатенкова А.К. Гранины в качестве иммуногистохимических и биохимических маркеров гормонально-неактивных аденом гипофиза: Дис. канд. мед. наук. 2016. с. 63–69.

Lipatenkova AK. Granins as immunohistochemical markers in pituitary adenoma. Dissertation of Candidate of Medical Sciences. 2016. pp. 63–69. (In Russ.).

19. Ntali G, Wass JA. Epidemiology, clinical presentation and diagnosis of non-functioning pituitary adenomas. *Pituitary* 2018;21(2):111–118. <https://doi.org/10.1007/s11102-018-0869-3>.

20. Mayson SE, Snyder PJ. Silent (clinically nonfunctioning) pituitary adenomas. *J Neurooncol* 2014;117(3):429–436. <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1425-2>.

21. Greenman Y, Stern N. Non-functioning pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009;23(5):625–638. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2009.05.005>.

22. Brochier S, Galland F, Kujas M et al. Factors predicting relapse of nonfunctioning pituitary macroadenomas after neurosurgery: a study of 142 patients. *Eur J Endocrinol*. 2010;163(2):193–200. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-0255>.

23. Sanmillan JL, Torres-Diaz A, Sanchez-Fernandez JJ et al. Radiological predictors for extent of resection in pituitary adenoma surgery. A single-center study. *World Neurosurg* 2017;108:436–446. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.09.017>.

24. Cooper O, Melmed S. Subclinical hyperfunctioning pituitary adenomas: the silent tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2012;26(4):447–460. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2012.01.002>.

25. Kobayashi I, Oka H, Naritaka H et al. Expression of Pit-1 and growth hormone-releasing hormone-receptor mRNA in human pituitary adenomas: difference among functioning, silent, and other nonfunctioning adenomas. *Endocr Pathol* 2002;13(2):83–98. <https://doi.org/10.1385/EP:13:2:8326>.

26. Yamada S, Ohyama K, Taguchi M et al. A study of the correlation between morphological findings and biological activities in clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *Neurosurgery* 2007;61(3):580–585. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000290906.53685.79>.

27. Cooper O. Silent corticotroph adenomas. *Pituitary* 2015;18(2):225–231. <https://doi.org/10.1007/s11102-014-0624-3>.

28. Langlois F, Lim DST, Yedinak CG et al. Predictors of silent corticotroph adenoma recurrence; a large retrospective single center study and systematic literature review. *Pituitary* 2018;21(1):32–40. <https://doi.org/10.1007/s11102-017-0844-4>.

29. Azzalin A, Appin CL, Schniederjan MJ et al. Comprehensive evaluation of thyrotropinomas: single-center 20-year experience. *Pituitary* 2016;19(2):183–193. <https://doi.org/10.1007/s11102-015-0697-7>.

Сведения об авторах:

С.В. Петров – доктор медицинских наук, профессор;
Я.С. Абузова – врач-патологоанатом;
Н.Ф. Гизатуллина – кандидат медицинских наук,
врач-патологоанатом;
Е.О. Соколова – врач-патологоанатом, ассистент
кафедры.

Information about the authors:

S.V. Petrov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
Y.S. Abuzova – Pathologist;
N.F. Gizatullina – Ph.D. in medicine, Pathologist;
E.O. Sokolova – Pathologist, Department assistant.

Конфликт интересов отсутствует.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Работа выполнена в инициативном порядке на собственные средства ав-

торов.

Funding source This work was done on the authors' own initiative and at their own expense.

Этическая экспертиза не требуется.

Ethics approval is not required.

Информированное согласие не требуется.

Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 28.02.2023; одобрена после рецензирования 30.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 28.02.2023; approved after reviewing 30.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ Rh-НЕГАТИВНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Дарья Витальевна Гоголева¹, Глеб Вячеславович Сычугов²

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹ pathology249@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5425-6472>

² docsgv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3251-6944>

Аннотация

Введение. Оценка иммуногистохимической экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-9), их ингибиторов (TIMP-1, TIMP-2), фибробластического фактора роста 2 (FGF2), трансформирующего фактора роста b1 (TGFB1) и коллагена 3 типа в трепанобиопсиях костного мозга пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными заболеваниями (МПЗ) имеет большое значение. Цель работы – оценка экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса (MMP-2, MMP-9, TIMP1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, Collagen III), участвующих в прогрессировании миелофиброза в трепанобиопсиях костного мозга в зависимости от мутационного статуса пациентов с ХМПЗ. **Материалы и методы.** Было проанализировано 108 трепанобиопсий костного мозга пациентов с МПЗ, которые были разделены на 3 группы: JAK2-позитивные (n=62), CALR-позитивные (n=25) и трижды негативные (n=21). Все гистопрепараты были окрашены иммуногистохимическим методом с использованием антител к MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, FGF2, TGFB1 и коллагену III и были оценены в программе ImageJ. Для выявления статистически значимых различий использовались критерии Краскелла-Уоллиса и Манна-Уитни. Также был подсчитан коэффициент корреляции Спирмена. Статистически достоверными считались различия $p < 0,05$. Результаты. Экспрессия металлопротеиназы MMP2 определялась в цитоплазме мегакариоцитов. Экспрессия MMP9 определялась в цитоплазме нейтрофилов, макрофагов, а также в экстрацеллюлярном матриксе (ЭМ) микроокружения кроветворного костного мозга. Ингибитор металлопротеиназ TIMP1 экспрессировался только в ЭМ. Экспрессия TIMP2, Collagen III, FGF2 и TGFB1 определялась в цитоплазме мегакариоцитов и ЭМ. Выявлены различия между всеми тремя группами, наибольшие различия между группами JAK2 и CALR. Выявлена слабая и умеренная положительная корреляция между мутацией JAK2 и иммуногистохимической экспрессией компонентов ЭМ и слабая негативная корреляция между мутацией CALR и иммуногистохимической экспрессией компонентов ЭМ. **Обсуждение.** Наибольшее количество компонентов ЭМ выявлено в JAK2-позитивной группе, наименьшее – в CALR-позитивной группе. Так как экспрессия оценивалась во всех миелоидных клетках и компонентах костномозговых ниш, можно говорить, что данный вид оценки более полный, чем в ранее опубликованных исследованиях, где оценка производилась только в сыворотке крови, по культуре клеток и др. **Заключение.** Иммуногистохимическая экспрессия MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, collagen type III зависит от драйверных мутаций. Это может быть полезно для понимания патогенеза фиброза и оценки прогноза Rh-негативных МПЗ. **Ключевые слова:** Rh-негативные миелопролиферативные заболевания, трепанобиопсия костного мозга, экстрацеллюлярный матрикс, JAK2 мутация, CALR мутация.

Для цитирования: Гоголева Д.В., Сычугов Г.В. Иммуноморфологическая характеристика экстрацеллюлярного матрикса костного мозга при rh-негативных миелопролиферативных заболеваниях. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):93-101. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-93-101>.

© Гоголева Д.В., Сычугов Г.В., 2023

© Gogoleva D.V., Sychugov G.V., 2023

IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF BONE MARROW EXTRACELLULAR MATRIX IN PH-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE DISEASES

Darya V. Gogoleva¹, Gleb V. Sychugov²

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ pathology249@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5425-6472>² docsgv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3251-6944>**Abstract**

Introduction Evaluation of immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 (MMP2, MMP9), their inhibitors (TIMP1, TIMP2), fibroblast growth factor (FGF2), transforming growth factor beta (TGFB1) and collagen type III in the bone marrow of patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPN) is of great importance. **The aim of the study** was the evaluation of expression of extracellular matrix components (MMP-2, MMP-9, TIMP1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, Collagen III) involved in myelofibrosis progression in bone marrow trepan biopsies depending on mutational status of patients with CMPD. **Materials and methods** We analyzed 108 bone marrow biopsies of patients with MPN, which were divided into 3 groups: JAK2-positive (n=62), CALR-positive (n=25) and triple-negative (n=21). Whole-slide sections were immunostained using antibodies against MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, collagen type III and scored by ImageJ plugin software. We used Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U-test for comparisons of differences in medians. Spearman's rank order correlation was calculated. Statistical significance was set at $p < 0.05$. **Results and Discussion** MMP2 expression was observed in megakaryocytes. MMP9 expression was observed in neutrophils, macrophages and the bone marrow extracellular matrix (EM). TIMP1 expression was observed in the EM. TIMP-2, FGF2, TGFB1 and collagen type III expression was observed in megakaryocytes and the EM. Kruskal-Wallis test determined the differences between all 3 groups (MMP-2 $p < 0.001$, MMP-9 $p = 0.023$, TIMP-1 $p < 0.001$, TIMP-2 $p < 0.001$, FGF2 $p < 0.001$, TGFB1 $p < 0.001$, collagen type III $p < 0.001$). Mann-Whitney U-test determined the most differences between JAK2- and CALR-groups (MMP-2 $p = 0.001$, MMP-9 $p = 0.001$, TIMP-1 $p = 0.001$, FGF2 $p = 0.001$, TGFB1 $p = 0.001$, collagen type III $p = 0.001$), except TIMP-2. There was the weak and moderate positive correlation between JAK2-mutation and the immunohistochemistry expression of EM components, also the weak negative correlation between CALR-mutation and the immunohistochemistry expression of EM components. **Conclusion** The bone marrow immunohistochemistry expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, collagen type III depends on driver mutations. It may be useful for understanding of fibrosis pathogenesis and prognosis estimate of Ph-negative MPN.

Key words: Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms, bone marrow biopsy, extracellular matrix, JAK2 mutation, CALR mutation.

For citation:

Gogoleva DV, Sychugov GV. Immunohistochemistry of bone marrow extracellular matrix in ph-negative myeloproliferative diseases. Ural medical journal 2023;22(2):93-101. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-93-101>

ВВЕДЕНИЕ

Ph-негативные хронические миелопролиферативные заболевания (ХМПЗ) – медленно прогрессирующие заболевания крови, ведущую роль в патогенезе которых играют генетические нарушения: мутация в гене JAK2, в гене кальретикулина CALR и мутации тромбоцетинового рецептора MPL [1]. Одним из исходов ХМПЗ является миелофиброз, проявления которого уменьшают продолжительность жизни и ухудшают состояние пациентов [2, 3]. Причины формирования миелофиброза до конца неясны. Миелофиброз – цитокин-опосредованный процесс, запускающийся при клональном перерождении гемопоэтической стволовой клетки (ГСК) [4, 5] и сопровождающийся продукцией белков

внеклеточного матрикса [6]. Нарушения в системе матриксных металлопротеиназ (ММП) и тканевых ингибиторов металлопротеиназ [7], а также выработка ростовых факторов – трансформирующего фактора роста В (TGFB) и фактора роста фибробластов (FGF2), повышает фиброгенную активность в стромальных клетках костного мозга [8, 9, 10].

Семейство ММП можно разделить на мембранные и секретируемые коллагеназы, желатиназы, стромелизины и матрилизины [11]. Наиболее изучены желатиназы MMP-2 и MMP-9, которые экспрессируются почти всеми клетками ниш микроокружения [12]. Желатиназы MMP-2 и -9 могут расщеплять различные типы коллагена и фибулин-2 [13]. В костном мозге MMP-2, -9 способны

разрушать факторы роста, влияя на мобилизацию ГСК в периферическую кровь [14, 15].

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP1-4) могут ингибировать все активированные ММП [16, 17] и экспрессируются в кроветворных и некроветворных клетках костного мозга. Помимо своих ингибирующих протеиназу функций, TIMP-1 и -2 стимулируют эритроидный росток [18, 19], а также могут значительно влиять на выживаемость и пролиферацию миелоидных клеток-предшественников [20, 21] и CD34+ ГСК [22] через мембранный рецептор CD63. Аналогичный CD63-опосредованный эффект наблюдается в клетках острого миелоидного лейкоза, за счёт вовлечения лейкозных клеток в клеточный цикл [23].

Фактор роста фибробластов (FGF2) и трансформирующий фактор роста B1 (TGFB1) участвуют в регуляции пролиферации и дифференцировки ГСК [24]. TGFB1 играет ключевую роль в продукции коллагена I типа [25].

Коллаген III типа секретируется в полых и растяжимых тканях, таких как кровеносные сосуды, кишечник и матка [26], также обнаруживается в костях, где он секретируется остеобластами [27]. Коллаген III обнаруживается по всему костному мозгу [28] в виде небольшого количества фибрилл, вокруг артериол [29] или в периостальных областях, но отсутствует в эндостальных областях и центральной части костно-мозговых лакун. Функционально коллаген III типа участвует в развитии трабекулярной кости, влияет на остеогенез [27] и образование тромбоцитов [29].

Цель работы – оценка экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса (MMP-2, MMP-9, TIMP1, TIMP-2, FGF2, TGFB1, Collagen III), участвующих в прогрессировании миелофиброза, в трепанобиопсиях костного мозга в зависимости от мутационного статуса пациентов с ХМПЗ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 113 трепанобиопсий костного мозга пациентов с установленными диагнозами истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, первичного миелофиброза и миело-пролиферативного заболевания неклассифицируемого, обследованных в ГБУЗ ЧОПАБ за период с 2014 по 2022 г. Обязательный критерий включения – молекулярно-генетическое исследование на JAK2V617F, CALR(1,2), MPL, а также отсутствие предшествующей циторедуктивной терапии. В исследовании участвовали 60 пациентов женского пола (53,1%) и 53 пациента мужского пола (46,9%); возраст от 22 до 82 лет (медиана – 58 лет, Q1 – 45,5; Q3 – 66,5). Мы разделили пациентов на 4 группы по результатам молекулярно-генетического исследования: первая группа – пациенты без мутаций, или «трижды негативные» (21 человек); вторая группа – пациенты с мутацией JAK2V617F (62 человек); третья группа – пациенты с мутациями CALR 1,2 (25 человек); четвертая группа

– пациенты с мутацией MPL (5 человек). Последняя группа (с мутацией MPL) была исключена из исследования в связи с малым количеством пациентов.

На остальных 108 трепанобиопсиях было выполнено иммуногистохимическое исследование с использованием системы визуализации UltraVIEW Universal (США) с хромогеном DAB. С парафиновых блоков трепанобиопсий костного мозга, изготавливались срезы толщиной 4 мкм. Иммуногистохимическая реакция ставилась в устройстве Ventana Benchmark (США) с применением моноклональных и поликлональных антител: MMP2 (клон Y175, производитель Epitomics), MMP9 (клон EP1254, производитель Epitomics), TIMP1 (производитель Abbiotec), TIMP2 (производитель Abbiotec), FGF2 (клон AS24, производитель GeneTex), TGFB1 (клон 7F6, производитель GeneTex), Collagen III (клон FH-7A, производитель GeneTex). Все гистопрепараты были отсканированы в гистосканере PANNORAMIC® 250 Flash III DX. Экспрессия антигенов оценивалась по гистосканам в программе ImageJ с плагинем ICH Profiler. Площадь оценки устанавливалась в программе – 1000 мкм². Оценка производилась в 5 разных участках трепанобиопсии, исключая субкортикальные ткани, толстые костные балки и искусственно смятые костномозговые пространства. Для статистического анализа использовалось среднее значение. Плотность окрашенных клеток и экстрацеллюлярного матрикса оценивалась в абсолютных цифрах площади (мкм²), также оценивалась объемная доля окрашенных клеток и экстрацеллюлярного матрикса в % (удельный объем окрашенных элементов по данным программы ImageJ × 100%) при исследовании на площади поверхности микропрепарата равной 1000 мкм².

Статистическая обработка данных проводилась в программе SPSS Statistics. Для оценки распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова с поправкой значимости Лиллиефорса. Во всех случаях распределение признаков отличалось от нормального. Для количественных показателей использовались методы описательной статистики – медиана (Me) и квартили (Q1 и Q3).

Непараметрический U-критерий Манна-Уитни и критерий Краскела-Уоллиса с поправкой Бонферрони ($p < 0,017$) использовались для оценки значимости различий между группами (группирующая переменная – мутации JAK2, CALR или их отсутствие, TN). Статистически достоверными считались различия $p < 0,05$. Значения p (менее 0,0001) обозначались $p < 0,001$.

Также производилась оценка корреляционных связей компонентов экстрацеллюлярного матрикса и мутационного статуса пациента (коэффициент ранговой корреляции Спирмена r_s). Для выявления корреляционной взаимосвязи между мутационным статусом и экстрацеллюлярным матриксом пациенты были перегруппированы на 2 группы – группа JAK2, $n=62$ и пациенты с другим мутационным статусом (группы TN+CALR, $n=46$); группа CALR, $n=25$ и TN+JAK2, $n=83$; группа TN, $n=21$ и

группы JAK2+CALR, n=87. Использовались количественные непараметрические данные (плотность окрашенных клеток и экстрацеллюлярного матрикса), во всех случаях распределение признаков отличалось от нормального.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами было выявлено, что в гистопрепаратах костного мозга экспрессия металлопротеиназы MMP2 определяется только в цитоплазме мегакариоцитов.

Экспрессия MMP9 определяется в цитоплазме нейтрофилов, макрофагов, а также в экстрацеллюлярном матриксе микроокружения кроветворного костного мозга. Ингибитор металлопротеиназ TIMP1 экспрессируется только в экстрацеллюлярном матриксе. Экспрессия ингибитора TIMP2, коллагена 3 типа, фибробластического фактора роста 2 (FGF2) и трансформирующего фактора роста B1 (TGFB1) определяется в цитоплазме мегакариоцитов и в экстрацеллюлярном матриксе (рис. 1, 2, 3).

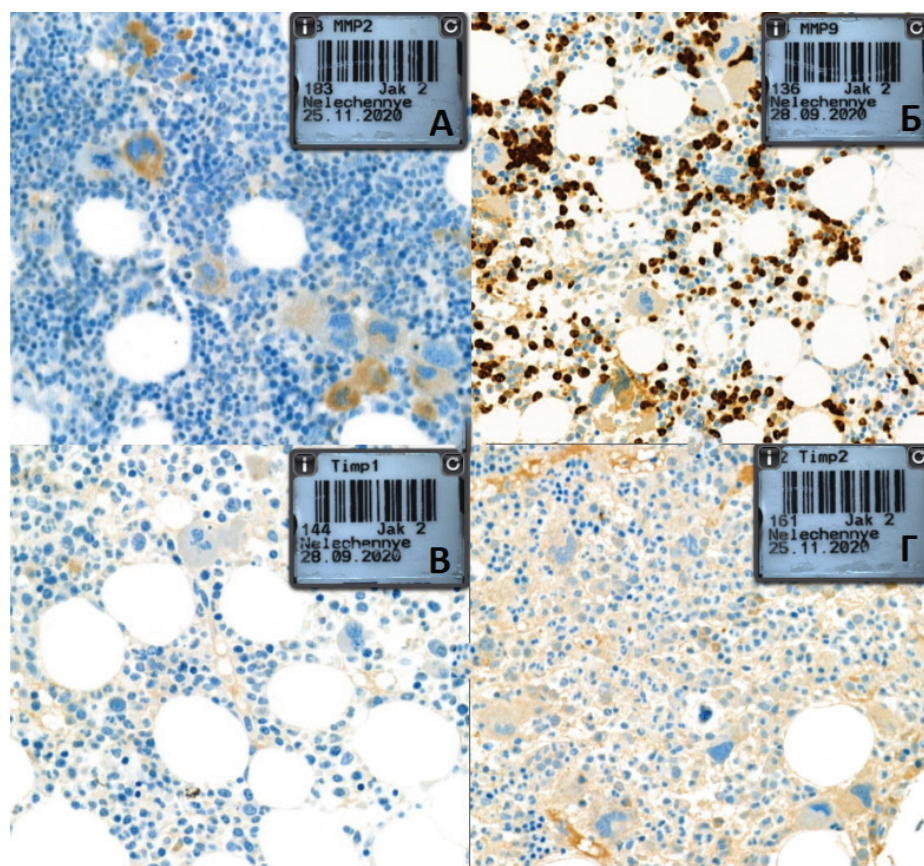


Рис. 1 Экспрессия компонентов экстрацеллюлярного матрикса в трепанобиопсиях костного мозга, группа JAK2, иммуногистохимическая окраска, $\times 400$: а) MMP2 – экспрессия в цитоплазме мегакариоцитов; б) MMP9 – экспрессия в цитоплазме нейтрофилов, макрофагов и в экстрацеллюлярном матриксе; в) TIMP1 – экспрессируется в экстрацеллюлярном матриксе; г) TIMP2 – экспрессия в цитоплазме мегакариоцитов и в экстрацеллюлярном матриксе.



Рис. 2 Экспрессия компонентов экстрацеллюлярного матрикса в трепанобиопсиях костного мозга, группа JAK2, иммуногистохимическая окраска, $\times 400$: а) FGF2 – экспрессируется в цитоплазме мегакариоцитов и экстрацеллюлярном матриксе; б) TGFB1 – экспрессия в цитоплазме мегакариоцитов и в экстрацеллюлярном матриксе.

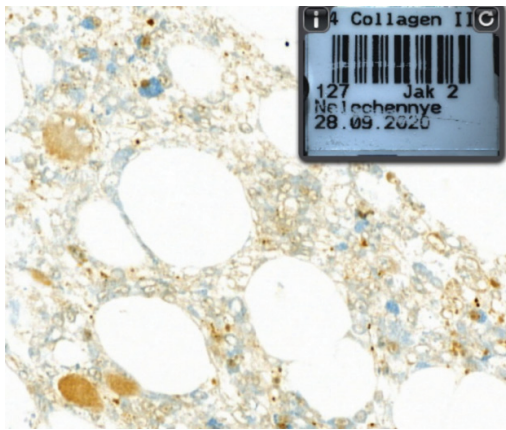


Рис. 3 Экспрессия компонентов экстрацеллюлярного матрикса в трепанобиопсиях костного мозга, группа JAK2, иммуногистохимическая окраска, $\times 400$: Collagen III – экспрессия в цитоплазме мегакариоцитов и в экстрацеллюлярном матриксе.

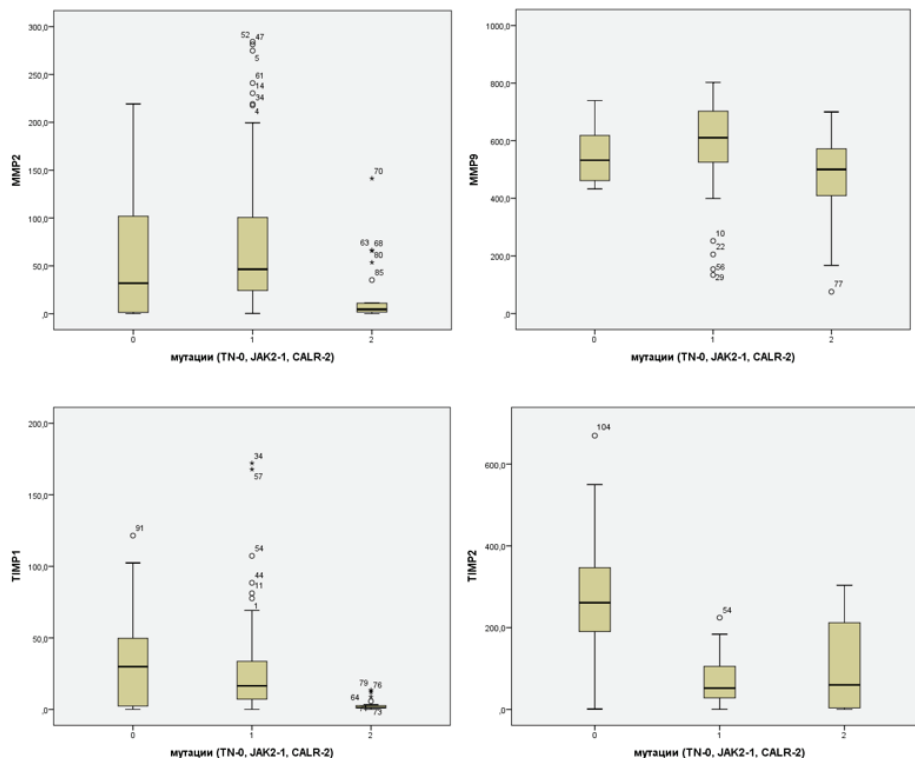


Рис. 4. Соотношение количества компонентов экстрацеллюлярного матрикса (окрашенная площадь в $\mu\text{км}^2$ – MMP2, MMP9, TIMP1, TIMP2) в зависимости от мутационного статуса: 0 – TN (трижды негативные), 1 – JAK2, 2 – CALR.

В таблице 1 приведена сравнительная характеристика экспрессии металлопротеиназ, их ингибиторов и других компонентов экстрацеллюлярного матрикса в количественном выражении (медиана, квартили) в зависимости от мутационного статуса пациента (нет мутаций – TN, JAK2, CALR) (рис. 4).

Нами было выявлено, что состав компонентов экстрацеллюлярного матрикса кроветворного костного мозга у пациентов с ХМПЗ, различается в зависимости от драйверной мутации.

При анализе MMP2 наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе (критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-Уитни для JAK2 и CALR = 0,001).

При анализе MMP9 наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально

выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе (критерий Краскелла-Уоллеса = 0,0023, критерий Манна-Уитни для JAK2 и CALR = 0,001).

При анализе TIMP1 наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в группе без мутаций (критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-Уитни для JAK2 и CALR = 0,001, для TN и CALR = 0,001).

При анализе TIMP2 наименее выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в группе без мутаций (критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-Уитни для TN и JAK2 = 0,001, для TN и CALR = 0,001).

При анализе FGF2 наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе

(критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-Уитни для JAK2 и CALR = 0,001, для TN и CALR = 0,023, для TN и JAK2 = 0,003).

При анализе TGFB1 наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе (критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-Уитни для JAK2 и CALR = 0,001, для TN и CALR = 0,024).

При анализе Collagen III наименее выражена экспрессия в CALR-позитивной группе, максимально выражена экспрессия в JAK2-позитивной группе (критерий Краскелла-Уоллеса $< 0,001$, критерий Манна-У-

итни для TN и JAK2 = 0,003, для JAK2 и CALR = 0,001).

Таким образом, в CALR-позитивной группе определяется наименьшее количество компонентов экстрацеллюлярного матрикса – мателлопротеиназ 2 и 9, ингибитора металлопротеиназ TIMP1, а также коллагена 3 типа, фибробластического фактора роста 2 (FGF2) и трансформирующего фактора роста B1 (TGFB1). В свою очередь в JAK2-позитивной группе определяется наибольшее количество компонентов экстрацеллюлярного матрикса – металлопротеиназ 2 и 9, коллагена 3 типа, фибробластического фактора роста 2 (FGF2) и трансформирующего фактора роста B1 (TGFB1).

Таблица 1.

Сравнительная количественная характеристика компонентов экстрацеллюлярного матрикса (в $\mu\text{км}^2$) в зависимости от мутационного статуса (нет мутаций – TN, JAK2, CALR).

Группы / компоненты экстрацеллюлярного матрикса	Me (Q1; Q3)			Критерий Краскелла-Уоллеса	Критерий Манна-Уитни:		
	Группа 1 нет мутаций TN, n=21	Группа 2 JAK2, n=62	Группа 3 CALR, n=25		P _{1,2}	P _{2,3}	P _{1,3}
MMP2	31,9 (1,1; 105,3)	46,5 (24,1; 100,6)	4,6 (1,8; 11,2)	$< 0,001$	0,197	0,001	0,208
MMP9	532,3 (458,5; 659,3)	610,4 (520,9; 703,9)	500,2 (406,1; 586)	$< 0,002$	0,147	0,001	0,072
TIMP1	29,9 (2,2; 53,6)	16,5 (7; 34)	1,3 (1; 3)	$< 0,001$	0,987	0,001	0,001
TIMP2	261 (174,8; 388,4)	52,2 (27,7; 105,5)	60 (2,5; 222,8)	$< 0,001$	0,001	0,993	0,001
FGF2	3,3 (1,3; 7,2)	10,3 (4; 19,4)	0,9 (0; 5,1)	$< 0,001$	0,003	0,001	0,023
TGFB1	29,3 (13,3; 73,1)	45,3 (15; 77,6)	4,8 (1,6; 36)	$< 0,001$	0,6	0,001	0,024
Collagen3	1,2 (0,3; 6,1)	13,3 (1,6; 62,6)	0,4 (0; 3)	$< 0,001$	0,003	0,001	0,098

При оценке корреляционной взаимосвязи между мутационным статусом и экстрацеллюлярным матриксом нами выявлена положительная корреляция средней и слабой силы (умеренная и слабая) между всеми исследованными компонентами экстрацеллюлярного матрикса и наличием мутации JAK2 (MMP2 rs = 0,366, $p < 0,001$; MMP9 rs = 0,299, $p = 0,002$; TIMP1 rs = 0,355, $p < 0,001$; FGF2 rs = 0,494, $p < 0,001$; TGFB1 rs = 0,277, $p = 0,004$; Collagen3 rs = 0,439, $p < 0,001$). Т.е. количество (окрашенная площадь) этих компонентов экстрацеллюлярного матрикса выше у пациентов с мутацией JAK2, чем в двух других группах, за исключением TIMP2, количество которого меньше при наличии данной мутации (TIMP2 rs = -0,305, $p = 0,001$).

Негативная взаимосвязь выявлена для группы с мутацией CALR (группа CALR, n=25 и TN+JAK2, n=83) (MMP2 rs = -0,382, $p < 0,001$; MMP9 rs = -0,310, $p = 0,001$; TIMP1 rs = -0,532, $p < 0,001$; FGF2 rs = -0,431, $p < 0,001$; TGFB1 rs = -0,361, $p < 0,001$; Collagen3 rs = -0,371, $p < 0,001$). То есть количество (окрашенная

площадь) этих компонентов экстрацеллюлярного матрикса ниже у пациентов с мутацией CALR, чем в двух других группах. Также за исключением TIMP2, где статистически достоверной корреляционной связи не выявлено (TIMP2 rs = -0,119, $p = 0,219$).

В свою очередь отсутствие мутаций (группа TN, n=21 и группы JAK2+CALR, n=87) не коррелирует с количеством компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Снова за исключением TIMP2, где выявлена негативная корреляция средней силы (умеренная) (rs = -0,488, $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Вопрос влияния компонентов экстрацеллюлярного матрикса на развитие фиброза является актуальным и давно изучается в различных локализациях (заболевания почек, легких, онкологические заболевания) [30]. Одним из частых исходов заболеваний из группы ХМПЗ является остеомиелофиброз, поэтому исследования, рассматривающие эту проблему с точки зрения различных нозологий,

мутаций и степени выраженности фиброза, являются актуальным вопросом онкогематологии и патологической анатомии.

В ранее опубликованных зарубежных исследованиях оценка продукции ММП производилась в сыворотке крови, а также *in vitro* с выделением CD34+ ГСК. Различия в таких исследованиях не выявлялись [31] или выявлялись минимально, например, отмечалось увеличение клональной активности ГСК под воздействием TIMP1 и других компонентов экстрацеллюлярного матрикса для мутации JAK2, в сравнении с мутацией CALR [32].

Полученные нами результаты показали, что наличие той или иной драйверной мутации или её отсутствие, влияет на продукцию компонентов экстрацеллюлярного матрикса. При этом данные получены при количественной оценке экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса в трепанобиоптатах костного мозга, с учётом всех зрелых и незрелых клеток миелоидного ряда (эритроидный, гранулоцитарный и мегакариоцитарный ростки) и компонентов костномозговых ниш, включая сосуды, ретикулиновые и коллагеновые волокна, клетки сопутствующего воспалительного инфильтрата. Такая оценка выявляет более полную картину, что дает возможность посмотреть на проблему с новой точки зрения, и делает исследование актуальным.

Нами получены данные о максимально выраженной экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса в группе с мутацией JAK2 и минимально выраженной в группе с мутацией CALR. При этом данные о снижении количества компонентов экстрацеллюлярного матрикса в CALR-положительной группе соотносятся с данными исследования 2017 г. (Силютин А.А., Матюхина Н.М., Лисина Е.Г. и др.), выявившим снижение количества металлопротеиназ (MMP9) в сыворотке крови CALR-положительных пациентов с ХМПЗ. У пациентов с различными формами ХМПЗ с учетом мутационного статуса (исследовался уровень TGFB, FGF2, MMP-2, -9 в сыворотке крови) было выявлено снижение уровня сывороточной MMP-9 по сравнению со здоровыми донорами, что может свидетельствовать о нарушении деградации коллагена. Снижение ММП было

более выражено у пациентов с мутацией CALR [33], несмотря на благоприятный прогноз в этой группе пациентов [34].

Интересным наблюдением является то, что отсутствие мутаций статистически не коррелирует с количеством компонентов экстрацеллюлярного матрикса, а различия между группой TN и двумя другими группами прослеживаются только по части маркеров. Это можно объяснить большой генетической гетерогенностью трижды негативной группы, т.к. отсутствие драйверных мутаций не исключает наличие других генетических поломок (мутации ASXL1, EZH2, TET2, IDH1, IDH2, SRSF2 и SF381) [35]. Сложность набора достаточных по количеству групп пациентов со всем спектром «недрайверных» генетических поломок при ХМПЗ затрудняет полную и объективную оценку трижды негативной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные подтверждают, что количество (окрашенная площадь) компонентов экстрацеллюлярного матрикса в трепанобиопсиях костного мозга различается в зависимости от мутационного статуса пациента. Наиболее выражены различия между JAK2-положительной, где площадь экспрессии компонентов экстрацеллюлярного матрикса (MMP2,9, Collagen III, FGF2, TGFB1) максимальна, и CALR-положительной группы, где площадь экспрессии (MMP2,9, TIMP1, Collagen III, FGF2, TGFB1) минимальна. Отсутствие мутаций не коррелирует с количеством компонентов экстрацеллюлярного матрикса, а различия между группой TN и двумя другими группами прослеживаются только по части маркеров (с группой JAK2 – TIMP2, FGF2 и Collagen III; с группой CALR – TIMP1, TIMP2, FGF2 и TGFB2).

Увеличение количества информации о связи между компонентами экстрацеллюлярного матрикса костного мозга и мутационным статусом пациента улучшит понимание патогенеза фиброза при Ph-негативных ХМПЗ и будет способствовать совершенствованию системы оценки прогноза у данной группы пациентов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Li J, Kent DG, Chen E, Green AR. Mouse models of myeloproliferative neoplasms: JAK of all grades. *Dis Model Mech* 2011;4(3):311–317. <https://doi.org/10.1242/dmm.006817>.
2. Barosi G, Mesa RA, Thiele J et al. Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia* 2008;22(2):437–438. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404914>.
3. Hoffman R, Rondelli D. Biology and treatment of primary myelofibrosis. *Hematology* 2007;2007(1):346–354. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2007.1.346>.
4. Jacobson RJ, Salo A, Fialkow PJ. Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis. *Blood* 1978;51(2):189–194.
5. Reeder TL, Bailey RJ, Dewald GW, et al. Both B and T lymphocytes may be clonally involved in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2003;101(5):1981–1983. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-2341>.
6. Reilly JT. Idiopathic myelofibrosis: pathogenesis, natural history and management. *Blood Rev* 1997;11(4):233–242. [https://doi.org/10.1016/S0268-960X\(97\)90022-9](https://doi.org/10.1016/S0268-960X(97)90022-9).
7. Giannandrea M, Parks WC. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis. *Dis Mod Mechan*

- 2014;7(2):193–203. <https://doi.org/10.1242/dmm.012062>.
8. Chagraoui H, Komura E, Tulliez M et al. Prominent role of TGF-beta 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice. *Blood* 2002;100(10):3495–3503. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1133>.
9. Martyre MC, Le Bousse-Kerdiles C, Romquin N et al. Elevated levels of basic growth factor in megakaryocytes and platelets from patients with idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997;97(2):441–448. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1997.292671.x>.
10. Boiocchi L, Vener C, Savi F et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor receptor 1 correlates with VEGF and microvessel density in Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Clin Pathol* 2011;64(3):226–231. <https://doi.org/10.1136/jcp.2010.083386>.
11. Yu XF, Han ZC. Matrix metalloproteinases in bone marrow: roles of gelatinases in physiological hematopoiesis and hematopoietic malignancies. *Histol Histopathol* 2006;21:519–531. <https://doi.org/10.14670/HH-21.519>.
12. Saw S, Weiss A, Khokha R, Waterhouse PD. Metalloproteases: on the watch in the hematopoietic niche. *Trends Immunol* 2019;40:1053–1070. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.09.006>.
13. Hergeth SP, Aicher WK, Essl M, Schreiber TD et al. Characterization and functional analysis of osteoblast-derived fibulins in the human hematopoietic stem cell niche. *Exp Hematol* 2008;36:1022–1034. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2008.03.013>.
14. Lee-Thedieck C, Schertl P, Klein G. The extracellular matrix of hematopoietic stem cell niches. *Adv Drug Deliv Rev* 2022;181:114069. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.114069>.
15. Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия. *Журнал акушерства и женских болезней* 2012;61(1):113–125.
Yarmolinskaya MI, Molotkov AS, Denisova VM. Matrix metalloproteinases and inhibitors: classification, mechanism of action. *Journal of obstetrics and women's diseases* 2012;61(1):113–125. (In Russ).
16. Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat Rev Cancer* 2017;17:38–53. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.115>.
17. Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta* 2010;1803:55–71. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.01.003>.
18. Hayakawa T, Yamashita K, Ohuchi E, Shinagawa A. Cell growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2). *J Cell Sci* 1994;107(9):2373–2379. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80015-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80015-9).
19. Hayakawa T, Yamashita K, Tanzawa K et al. Growthpromoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) for a wide range of cells a possible new growth factor in serum. *FEBS Lett* 1992; 298:29–32. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80015-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80015-9).
20. Kobuch J, Cui H, Grünwald B et al. TIMP-1 signaling via CD63 triggers granulopoiesis and neutrophilia in mice. *Haematologica* 2015;100(8):1005–1013. <https://doi.org/10.3324/haematol.2014.121590>.
21. Rossi L, Forte D et al. The tissue inhibitor of metalloproteinases 1 increases the clonogenic efficiency of human hematopoietic progenitor cells through CD63/PI3K/Akt signaling. *Exp Hematol* 2015;43:974–985. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2015.07.003>.
22. Dassé E, Bridoux L, Baranek T et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 promotes hematopoietic differentiation via caspase-3 upstream the MEK1/MEK6/p38alpha pathway. *Leukemia* 2007;21:595–603. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404540>.
23. Forte D, Salvestrini V, Corradi G et al. The tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) promotes survival and migration of acute myeloid leukemia cells through CD63/PI3K/Akt/p21 signaling. *Oncotarget* 2017;8:2261–2274. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13664>.
24. Coombe DR, Kett WC. Heparan sulfate-protein interactions: therapeutic potential through structure-function insights. *Cell Mol Life Sci* 2005;62:410–424. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4293-7>.
25. Chang N, Xiu L, Li L. Sphingosine 1-phosphate receptors negatively regulate collagen type I/III expression in human bone marrow-derived mesenchymal stem cell. *J Cell Biochem* 2014;115:359–367. <https://doi.org/10.1002/jcb.24670>.
26. Kuivaniemi H, Tromp G. Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene* 2019;717:151–171. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.003>.
27. Volk SW, Shah SR, Cohen AJ et al. Type III collagen regulates osteoblastogenesis and the quantity of trabecular bone. *Calcif Tissue Int* 2014;94:621–631. <https://doi.org/10.1007/s00223-014-9843-x>.
28. Semeniak D, Kulawig R, Stegner D et al. Proplatelet formation is selectively inhibited by collagen type I through Syk-independent GPVI signaling. *J Cell Sci* 2016;129:3473–3484. <https://doi.org/10.1242/jcs.187971>.
29. Malara A, Currao M, Gruppi C et al. Megakaryocytes contribute to the bone marrow-matrix environment by expressing fibronectin, type IV collagen, and laminin. *Stem Cells* 2014;32:926–937. <https://doi.org/10.1002/stem.1626>.
30. Ceron CS, Baligand C, Joshi S, et al. An intracellular matrix metalloproteinase-2 isoform induces tubular regulated necrosis: implications for acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2017;312(6):1166–1183. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00461.2016>.
31. Wang JC, Novetsky A, Chen C et al. Plasma matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in patients with agnogenic myeloid metaplasia or idiopathic primary myelofibrosis. *Br J Haematol* 2002;119(3):709–712. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03874.x>.
32. Sollazzo D, Forte D, Polverelli N et al. Crucial factors of the inflammatory microenvironment (IL-1β/ TNF-α/ TIMP-1) promote the maintenance of the malignant hemopoietic clone of myelofibrosis: an in vitro study. *Oncotarget* 2016;7(28):974–988. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9949>.
33. Силютин А.А., Матюхина Н.М., Лисина Е.Г. Спектр про- и антифибротических факторов в сыворотке у пациентов

с хроническими миелопролиферативными заболеваниями. Клиническая онкогематология 2017;10(4):479–484. Silyutina A, Matyukhina NM, Lisina EG. Pro- and antifibrotic factors in the serum of patients with chronic myeloproliferative disorders. Clinical oncohematology 2017;10(4):479–84. (In Russ.).

34. Kim SY, Im K, Park SN et al. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassified. Am J Clin Pathol 2015;143(5):635–644. <https://doi.org/10.1309/AJCPUAAC16LIWZMM>.

35. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES et al., editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon, France; 2017.

Сведения об авторах:

Д.В. Гоголева – аспирант;
Г.В. Сычуглов – кандидат медицинских наук;

Information about the authors:

D.V. Gogoleva – Post-graduated student;
G.V. Sychugov – Ph.D. in medicine.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.
Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза не требуется.
Ethical review is not required.

Информированное согласие не требуется.
Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 17.02.2023; одобрена после рецензирования 27.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.
The article was submitted 17.02.2023; approved after reviewing 27.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ ПРИ НЕОПРЕДЕЛЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ ПСОРИАЗА И АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ

Н.В. Юрина¹, Т.А. Агеева², О.А. Макеенко³, И.Р. Еремеев⁴, И.Г. Сергеева⁵

^{1,2} Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

^{3,4,5} Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

¹ yurina_nat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-8629>

² ageta@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7933-8394>

³ oksana@makeenko.info, <https://orcid.org/0000-0003-2287-7172>

⁴ i.ermeev@g.nsu.ru

⁵ i_g_sergeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1748-8957>

Аннотация

Введение. Все чаще в литературе описываются нетипичные клинические формы псориаза и атопического дерматита у детей, сочетающие в себе черты обоих заболеваний. В таких случаях дерматологи в комплексной диагностике прибегают к биопсии бляшечных элементов кожи. Однако гистологическая картина в этих биоптатах неопределенная и не позволяет однозначно судить о соответствии изменений тому или иному заболеванию. Цель работы – сравнить патоморфологические изменения в биоптатах бляшечных элементов кожи при неопределенной клинической картине заболевания у детей с изменениями при типичных формах псориаза и атопического дерматита. Материалы и методы. Было проведено морфометрическое исследование 10 биоптатов бляшечных элементов кожи детей (средний возраст $9,2 \pm 1,11$ года) с неопределенной клинической картиной заболевания. Полученные данные сравнивались с двумя контрольными группами взрослых пациентов с типичными клиническими картинами псориаза ($n=20$; средний возраст $34,35 \pm 3,58$ года) и атопического дерматита ($n=10$, средний возраст $41,33 \pm 7,35$ года). Результаты. Сравнительный морфометрический анализ биоптатов кожи выявил наименьшее количество различий анализируемых параметров плоского эпителия пациентов исследуемой группы и группы с псориазом. Во всех трех группах основной массив воспалительного инфильтрата в дерме составили лимфоциты и макрофаги, численная плотность которых различалась при псориазе и атопическом дерматите на разных уровнях дермы, а в исследуемой группе имело промежуточные значения. Количество нейтрофилов и эозинофилов в исследуемой группе имели минимальные значения. Обсуждение. Морфологические изменения в эпидермисе исследуемой группы были наиболее близки к изменениям при псориазе, а клеточный состав воспалительного инфильтрата дермы не соответствовал ни одной из контрольных групп и имел либо промежуточные значения (по показателям лимфоцитов и макрофагов), либо минимальные значения (по показателям эозинофилов и нейтрофилов). Заключение. Анализ морфологических изменений кожи в группе пациентов с неопределенной клинической картиной заболевания выявил наличие морфологических критериев как псориаза (в большей степени), так и атопического дерматита, а так же промежуточные значения показателей в части критериев. Такая разнородность морфологических изменений согласуется с неоднородностью клиники и требует дальнейшего изучения. Ключевые слова: псориаз, атопический дерматит, неопределенные клинические формы дерматозов у детей, морфология дерматита.

Для цитирования: Юрина Н.В., Агеева Т.А., Макеенко О.А. с соавт. Морфологические особенности изменений кожи при неопределенной клинической картине псориаза и атопического дерматита у детей. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):102-108. <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-102-108>.

© Юрина Н.В., Агеева Т.А., Макеенко О.А., Еремеев И.Р., Сергеева И.Г., 2023
© Yurina N.V., Ageeva T.A., Makeenko O.A., Ermeev I.R., Sergeeva I.G., 2023

MORPHOLOGICAL FEATURES OF SKIN CHANGES IN THE UNDETERMINED CLINICAL PICTURE OF PSORIASIS AND ATOPIC DERMATITIS IN CHILDRENN.V. Yurina¹, T.A. Ageeva², O.A. Makeenko³, I.R. Ereemeev⁴, I.G. Sergeeva⁵^{1,2} Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia^{3,4,5} Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia¹ yurina_nat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6907-8629>² ageta@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7933-8394>³ oksana@makeenko.info, <https://orcid.org/0000-0003-2287-7172>⁴ i.eremeev@ngsu.ru⁵ i_g_sergeeva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1748-8957>**Absrtact**

Introduction The literature describes atypical clinical forms of psoriasis and atopic dermatitis in children that combine features of both diseases. In such cases, dermatologists resort to biopsy of plaque skin elements in the complex diagnosis. However, the histological picture in these biopsy specimens is uncertain and does not allow to make an unequivocal judgment about the correspondence of changes to one or another disease. **The purpose of work** was to compare pathomorphological changes in biopsy specimens of plaque skin elements in children with undetermined clinical picture of the disease with changes in typical forms of psoriasis and atopic dermatitis. **Materials and methods** A morphometric study of 10 plaque skin biopsy specimens from children (mean age 9.2 ± 1.11 years) with an indeterminate clinical picture of the disease was performed. The obtained data were compared with two control groups of adult patients with typical clinical pictures of psoriasis ($n=20$; mean age 34.35 ± 3.58 years) and atopic dermatitis ($n=10$; mean age 41.33 ± 7.35 years). **Results** A comparative morphometric analysis of skin biopsy specimens revealed the fewest differences between the analyzed parameters of the squamous epithelium of the patients in the study group and the group with psoriasis. In all three groups, the main mass of the inflammatory infiltrate in the dermis was composed of lymphocytes and macrophages whose numerical density differed in psoriasis and atopic dermatitis at different levels of the dermis, while in the study group it had intermediate values. The number of neutrophils and eosinophils in the study group had minimal values. **Discussion** Morphological changes in the epidermis of the study group were closest to those in psoriasis, while the cellular composition of the inflammatory infiltrate of the dermis did not correspond to any of the control groups and had either intermediate values (in terms of lymphocytes and macrophages) or minimal values (in terms of eosinophils and neutrophils).

Key words: psoriasis, atopic dermatitis, uncertain clinical forms of dermatoses in children, morphology of dermatitis.

For citation:

Yurina NV, Ageeva TA, Makeenko OA et al. Morphological features of skin changes in the undetermined clinical picture of psoriasis and atopic dermatitis in children. Ural medical journal 2023;22(2):102-108. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-102-108>

ВВЕДЕНИЕ

Псориаз и атопический дерматит (АД) являются одними из самых распространенных воспалительных заболеваний кожи, в том числе у детей. Псориаз встречается у 0,5–0,7% детей в Европейских странах [1], а распространенность АД у детей в европейских странах варьирует от 8,4% в Германии до 18,6% в странах южной Европы, в Испании и Италии [2].

В Российской Федерации самые высокие показатели распространенности псориаза наблюдаются в группе детей 15–17 лет и составляют 326,0 на 100 тыс. соответствующего населения [3, 4]. Распространенность атопического дерматита среди

детского населения достигает 20% и максимальна у детей раннего возраста, от 0 до 14 лет, составляя 774,4 случая на 100 тыс. соответствующего населения [4]. Регистрируется стойкое увеличение распространенности и заболеваемости атопическим дерматитом. Динамика заболеваемости псориазом колеблется год от года и в зависимости от возраста [4, 5]. Оба заболевания значительно влияют на качество жизни пациентов и их семей, влекут за собой ряд социально-экономических проблем [6, 7].

Псориаз и атопический дерматит представляют собой заболевания с различными клиническими, тканевыми и молекулярными фенотипами и самостоятельными подходами к лечению. Типич-

ные случаи обоих заболеваний диагностируются клинически и, согласно актуальным клиническим рекомендациям¹, не требуют гистологического подтверждения.

Однако в настоящее время в литературе все чаще публикуют данные о том, что у части пациентов детского возраста существует одновременное наличие клинических проявлений, характерных как для атопического дерматита, так и для псориаза, что квалифицируется как «неопределенная» нозологическая форма [8–12]. В таких случаях для дифференциальной диагностики между псориазом и атопическим дерматитом дерматологи возлагают определенные надежды и на результаты гистологического исследования.

Классические морфологические диагностические критерии псориаза и экзематозных дерматитов, в том числе атопического, описаны, но продолжается их систематизация, выделение наиболее значимых критериев и подтипов [13–17]. В то же время для клинически «неопределенных» форм отсутствует понимание применимости и значимости типичных морфологических критериев, характерных для атопического дерматита и псориаза, или же имеет место наличие в них особых, свойственных только этим формам, критериев или их сочетаний [18].

Поэтому морфологическая оценка биопсии кожи у пациентов с неопределенными клиническими формами представляет трудность для дерматопатологов и не приносит ожидаемую диагностическую ценность для клиницистов и пациентов.

Цель работы – сравнить патоморфологические изменения в биоптатах бляшечных элементов кожи при неопределенной клинической картине заболевания у детей с изменениями при типичных формах псориаза и атопического дерматита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено морфологическое исследование биоптатов бляшечных элементов кожи 10 пациентов детского возраста от 2 до 15 лет (средний возраст $9,2 \pm 1,11$ года, 6 девочек, 4 мальчика) с неопределенной клинической картиной заболевания и отсутствием типичной гистологической картины псориаза либо атопического дерматита по результатам выполненной биопсии кожи (исследуемая группа). В качестве контроля сформированы две группы пациентов с диагностированным псориазом ($n=20$, средний возраст $34,35 \pm 3,58$ года, 8 женщин, 12 мужчин) и атопическим дерматитом ($n=10$, средний возраст $41,33 \pm 7,35$ года, 4 женщины, 6 мужчин), имеющие типичную клиническую картину и подтвержденные гистологическим исследованием. Биопсированные фрагменты кожи фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина,

проводили в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Приготовленные препараты исследовали методом световой микроскопии в проходящем свете на микроскопе «Leica DM2500» [19].

Для анализа выбраны три группы морфологических признаков, характеризующих изменения плоского эпителия, состояние сосудов сосочкового слоя дермы и воспалительные инфильтраты в дерме [20, 21, 22].

Морфометрически оценивали численную плотность (N_v) акантотических тяжей на единицу длины (в поле зрения, при увеличении $\times 100$); их длину (мкм), ширину у основания и на конце (мкм); численную плотность (N_v) капиллярных петель в сосочковом слое дермы. Оценен клеточный состав инфильтратов (%) поверхностного и глубокого отделов дермы путем подсчета 100 клеток в 10 случайных полях зрения от каждого пациента [23].

Проверка полученных показателей выявила нормальный закон распределения значений, поэтому данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического. Достоверность сравниваемых величин оценивали по критерию Стьюдента. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При гистологическом исследовании все фрагменты кожи бляшечных элементов исследуемой группы пациентов с неопределенной клинической картиной имели ряд общих морфологических черт. Изменения плоского эпителия характеризовались псориазоформным акантозом с формированием нерегулярных акантотических тяжей. Зернистый слой был неравномерной толщины, с участками истончения. На поверхности зоны орто- и паракератоза. В сосочковом слое дермы встречались как участки фиброзирования, так и отека с пролиферацией капиллярных петель и воспалительной инфильтрацией. Глубже, в сетчатом слое дермы были сформированы периваскулярные и очаговые лимфомакрофагальные инфильтраты.

При сравнительной морфометрической оценке изменений плоского эпителия установлено, что у пациентов с неопределенной клинической картиной и пациентов с псориазом в таких исследуемых параметрах, как количество акантотических тяжей, их длина, толщина у основания, толщина надсосочкового слоя статистически значимых различий не выявлено. Имело место статистически значимое различие только в толщине акантотических тяжей у конца (табл. 1), которые были на 18% шире при псориазе, чем в исследуемой группе.

При сравнении морфометрических показателей исследуемой группы с группой атопического дерматита значимые различия были выявлены

¹ Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов и косметологов». Клинические рекомендации: Псориаз. 2020; Клинические рекомендации: Атопический дерматит. 2021

в количестве акантотических тяжей, их длине и толщине у основания и конца (табл. 1) и имели минимальные значения по сравнению с псориазом и исследуемой группой. Так при atopическом дерматите количество акантотических тяжей было на 27% меньше, они были на 35% короче, и на 18% тоньше у конца, чем в исследуемой группе.

При подсчете количества капилляров в сосочковом слое дермы установлено, что их количество одинаково в биоптатах исследуемой группы и группы псориаза: $2,4 \pm 0,68$ и $2,3 \pm 0,36$ соответственно и более, чем в два раза ниже в дерме при atopическом

дерматите $1,0 \pm 0,13$ (табл. 1).

Таким образом, среди 6 исследованных морфологических характеристик плоского эпителия и сосудов в исследуемой группе выявлено одно различие с группой псориаза и 5 значимых различий с группой atopического дерматита. Соответственно, в плоском эпителии исследуемой группы выявлено сходное с псориазом количество акантотических тяжей, их длина с толщиной у основания и количеством капилляров в сосочках дермы. Один признак (толщина надсосочкового слоя) не имел достоверных различий во всех трех группах.

Таблица 1.

Результаты морфометрического исследования многослойного плоского эпителия биоптатов бляшечных элементов кожи пациентов с псориазом, atopическим дерматитом и пациентов с неопределенной клинической картиной заболевания

Параметры	M±m		
	Псориаз, n=20	Исследуемая группа, n=10	Атопический дерматит, n=10
Эпидермис			
Количество акантотических тяжей (Nv)	$9,9 \pm 0,62$	$11,1 \pm 1,04^*$	$8,0 \pm 1,05^*$
Длина акантотических тяжей (мкм)	$14,1 \pm 0,34$	$15,1 \pm 0,42^*$	$9,7 \pm 0,35^*$
Толщина акантотического тяжа у основания (мкм)	$3,4 \pm 0,16$	$3,4 \pm 0,2^*$	$3,1 \pm 0,17^*$
Толщина акантотического тяжа у конца (мкм)	$3,3 \pm 0,1^*$	$2,8 \pm 0,24^*$	$2,3 \pm 0,12^*$
Толщина надсосочкового слоя (мкм)	$4,6 \pm 0,18$	$4,7 \pm 0,23$	$4,7 \pm 0,21$
Оценка сосудов			
Количество капилляров сосочкового слоя дермы (Nv)	$2,3 \pm 0,36$	$2,4 \pm 0,68^*$	$1,0 \pm 0,13^*$

Примечания: * - различия статистически значимы между показателями исследуемой группы и группы псориаза ($p \leq 0,05$); " - различия статистически значимы между показателями исследуемой группы и группы atopического дерматита ($p \leq 0,05$).

Основным клеточным субстратом воспалительного инфильтрата дермы во всех трех группах были макрофаги и лимфоциты, составляющие в среднем 98-99% клеточной популяции, как в сосочковом, так и сетчатом слое, в различном соотношении. Так, наибольшее количество лимфоцитов (44,8%) в инфильтрате при наименьшем количестве макрофагов (53,9%) в сетчатом слое дермы наблюдали при atopическом дерматите. Напротив, при псориазе инфильтрат содержал максимальное количество макрофагов (68,5%) при наименьшем количестве лимфоцитов (30,9%), по сравнению с двумя другими группами. А в коже пациентов с неопределенной клинической картиной заболевания имели место промежуточные значения количества лимфоцитов (39,8%) и макрофагов (60,0%) (Табл.2).

Морфометрический анализ клеточного состава воспалительного инфильтрата в дерме в зависимости от уровня расположения (в сосочковом или сетчатом слое) не выявил статистически значимого различия в его составе в биоптатах исследуемой группы и группы псориаза. В биоптатах кожи паци-

ентов с atopическим дерматитом по сравнению с исследуемой группой имеет место статистически значимое различие в количестве лимфоцитов, эозинофилов и макрофагов в сосочковом и сетчатом слое дермы. Так в сосочковом слое дермы было больше эозинофилов в 2,8 раза и макрофагов на 15%, а лимфоцитов на 20% больше в сетчатом слое дермы (табл. 2).

В паре псориаз/исследуемая группа значимые отличия имели место в количестве лимфоцитов и макрофагов в составе инфильтратов в сетчатом слое дермы, а также в количестве нейтрофилов и плазмочитов в обоих слоях с преобладанием их при псориазе.

В паре atopический дерматит/исследуемая группа значимые отличия получены в количестве эозинофилов и нейтрофилов в обоих слоях дермы, количество которых было хоть и небольшим, но максимальным в группе atopического дерматита, среди всех сравниваемых групп. Так же имеется различие в количестве макрофагов сетчатого слоя дермы с наименьшим их содержанием при atopическом дерматите.

Таблица 2.

Результаты морфометрического исследования клеточного состава воспалительного инфильтрата биоптатов бляшечных элементов кожи пациентов с псориазом, атопическом дерматитом и пациентов с неопределенной клинической картиной заболевания

Клетки инфильтрата Псориаз, n=20		M±m		
		Исследуемая группа, n=10	Атопический дерматит, n=10	
Лимфоциты	сосочковый слой	33,6 ±3,07	36,3 ±3,18	36,4 ±2,56
	сетчатый слой	30,9 ±2,34*	39,8 ±2,52*	44,8 ±2,92
Плазмоциты	сосочковый слой	0,2 ±0,11*	0 (0)*	0 (0)
	сетчатый слой	0,2 ±0,05*	0,02 ±0,02*	0,02 (0)
Макрофаги	сосочковый слой	65,5 ±3,03	63,5 ±3,13	61,1 ±2,44
	сетчатый слой	68,5 ±2,22*	60,1 ±2,57* "	53,98 ±2,74 "
Эозинофилы	сосочковый слой	0,3 ±0,1	0,2 ±0,07"	1,8 ±0,01 "
	сетчатый слой	0,2 ±0,06	0,08 ±0,05"	0,66 ±0,19 "
Нейтрофилы	сосочковый слой	0,3 ±0,1*	0,08 ±0,07* "	0,77 ±0,3 "
	сетчатый слой	0,3 ±0,07*	0,02 ±0,02* "	0,55 ±0,13 "

Примечания: * - различия статистически значимы между показателями исследуемой группы и группы псориаза ($p \leq 0,05$); " - различия статистически значимы между показателями исследуемой группы и группы атопического дерматита ($p \leq 0,05$).

Таким образом, при исследовании клеточного состава воспалительного инфильтрата дермы в группе пациентов с неопределенной клинической картиной заболевания обращает внимание наименьшее из всех групп содержание эозинофилов и нейтрофилов в обоих слоях дермы, а также промежуточные между псориазом и атопическим дерматитом значения показателей содержания лимфоцитов и нейтрофилов в инфильтрате обоих слоев дермы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические проявления псориаза и атопического дерматита различаются в зависимости от возраста пациентов, расы и этнической принадлежности, формы и степени тяжести заболевания [8, 24, 25, 26], в то время как морфологические отличия в биоптатах кожи бляшечных элементов в зависимости от этих признаков не описаны. Так же отсутствуют описания гистологической картины и при неопределенных клинических формах заболевания. Отдельные закономерности в морфологических проявлениях прослеживаются лишь в зависимости от формы заболевания и стадии развития бляшечного элемента.

Классические морфологические критерии для этих заболеваний хорошо описаны [21, 22, 23] и именно эти критерии были выбраны для морфометрического исследования.

Морфометрическое исследование биоптатов кожи пациентов с неопределенной клинической картиной установило, что структурные преобразования эпидермиса, по выбранным классическим критериям, были наиболее близки к псориазическим, статистически различаясь лишь по показателю толщины акантотических тяжей у конца, что морфологически проявляется отсутствием булавовидного утолщения концов акантотических тяжей,

являющихся классическим признаком псориаза. Прлиферация и расширение капилляров сосочкового слоя дермы – еще один классический признак псориаза – с одинаковой частотой наблюдали как в исследуемой группе, так и в группе псориаза. Отнести выявленные изменения исключительно к псориазическим не позволяет клеточный состав воспалительного инфильтрата в дерме, который отличался как от состава инфильтрата при псориазе, так и при атопическом дерматите, занимая промежуточное положение по соотношению количества лимфоцитов и макрофагов и имея минимальные значения количества эозинофилов и нейтрофилов. В исследуемой группе пациентов с учетом неопределенной клинической картины заболевания, псориазоподобного паттерна в эпидермисе и отличительного состава клеточного инфильтрата, выявленные нами изменения поддерживают существующую теорию единого спектра воспалительных дерматозов с крайними точками в виде псориаза и атопического дерматита и наличия промежуточного переходного положения неопределенной клинической формы между ними [9, 11, 27, 28]. Кроме того, обсуждается, что в случае неопределенной клинической картины может иметь место отдельная, не выделенная в настоящий момент, форма одного из заболеваний по типу азиатской формы атопического дерматита, имеющая похожее сочетание признаков [8, 29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленная в исследовании разнородность морфологических проявлений согласуется с нетипичностью клинической картины и требует дальнейшего анализа. Представляется перспективными поиск и оценка иных дифференциально-диагностических критериев, в частности различных классов регуляторных молекул в клетках

воспалительных инфильтратов дермы, принимающих участие, как в патогенезе псориаза, так и атопического дерматита, в биоптатах кожи этой группы пациентов [30, 31].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Augustin M, Glaeske G, Radtke MA et al. Epidemiology and comorbidity of psoriasis in children. *Br J Dermatol* 2010;162:633–636.
2. Silverberg JI, Barbarot S, Gadkari A et al. Atopic dermatitis in the pediatric population: A cross-sectional, international epidemiologic study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;126(4):417–428.e2. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2020.12.020>.
3. Багаева А.М., Нашкоев М.Р., Мадьянова В.В., Тоскин И.А. Сравнительная характеристика подходов к мониторингу и оценке заболеваемости псориазом в Российской Федерации и странах Европейского региона. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины 2021;29(1):59–65. <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-1-59-65>.
4. Bagaeva AM, Nashkhoev MR, Madyanova VV, Toskin IA. The comparative characteristic of approaches to monitoring and evaluation of morbidity of psoriasis in the Russian Federation and the countries of the European region. *Problems of Social Hygiene, Public Health, and History of Medicine = Problemi socialnoi gigieni, zdravookhraneniia i istorii meditsini* 2021;29(1):59–65. (In Russ.). <https://doi.org/10.32687/0869-866X-2021-29-1-59-65>
5. Кубанов А.А., Богданова Е.В. Организация и результаты оказания медицинской помощи по профилю дерматовенерология в Российской Федерации. Итоги 2018 года. Вестник дерматологии и венерологии 2019;95(4):8–23. Kubanov AA, Bogdanova EV. Dermatovenereologic health care delivery management in the Russian Federation. Results of 2018. *Bulletin of Dermatology and Venereology = Vestnik Dermatologii i Venerologii* 2019;95(4):8–23. (In Russ.). <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-4-8-23>.
6. Жукова О.В., Касихина Е.И. Эпидемиологические аспекты псориаза у детей. Клиническая дерматология и венерология 2018;17(5):24–28. <https://doi.org/10.17116/klinderma20181705124>. Zhukova OV, Kasikhina EI. Epidemiological aspects of psoriasis in children. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology = Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya* 2018;17(5):24–28. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/klinderma20181705124>.
7. Ali F, Vyas J, Finlay AY. Counting the burden: atopic dermatitis and health-related quality of life. *Acta dermatovenereologica* 2020;100(12):adv00161. <https://doi.org/10.2340/00015555-3511>.
8. Randa H, Lomholt JJ, Skov L, Zachariae R. Health-related quality of life in adolescents with psoriasis: an interview-based study. *Br J Dermatol* 2018;178(6):1404–1411. <https://doi.org/10.1111/bjd.16326>.
9. Noda S, Suárez-Fariñas M, Ungar B et al. The Asian atopic dermatitis phenotype combines features of atopic dermatitis and psoriasis with increased TH17 polarization. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1254–1264. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.015>.
10. Bozek A, Zajac M, Krupka M. Atopic dermatitis and psoriasis as overlapping syndromes. *Mediators Inflamm* 2020;2020:7527859. <https://doi.org/10.1155/2020/7527859>.
11. Forward E, Lee G, Fischer G. Shades of grey: what is paediatric psoriasiform dermatitis and what does it have in common with childhood psoriasis? *Clin Exp Dermatol* 2021;46(1):65–73. <https://doi.org/10.1111/ced.14373>.
12. Guttman-Yassky E, Krueger JG. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? *Curr Opin Immunol* 2017;48:68–73. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.08.008>.
13. Esaki H, Brunner PM, Renert-Yuval Y et al. Early-onset pediatric atopic dermatitis is T_H2 but also T_H17 polarized in skin. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138(6):1639–1651. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.013>.
14. Krupka-Olek M, Bozek A, Drewienkowska M et al. Immunological differences between atopic dermatitis, psoriasis, and their combination in adult patients. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2022;50(4):143–146. <https://doi.org/10.15586/aei.v50i4.557>.
15. Chau T, Parsi KK, Ogawa T et al. Psoriasis or not? Review of 51 clinically confirmed cases reveals an expanded histopathologic spectrum of psoriasis. *J Cutan Pathol* 2017;44(12):1018–1026. <https://doi.org/10.1111/cup.13033>.
16. Kouwenhoven TA, Bronckers IMGJ, van de Kerkhof PCM et al. Psoriasis dermatitis: an overlap condition of psoriasis and atopic dermatitis in children. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2019;33(2):e74–e76. <https://doi.org/10.1111/jdv.15213>.
17. Murphy M, Kerr P, Grant-Kels JM. The histopathologic spectrum of psoriasis. *Clin Dermatol* 2007;25(6):524–528. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2007.08.005>.
18. Patruno C, Amerio P, Chiricozzi A et al. Optimizing a clinical guidance for diagnosis of atopic dermatitis in adults: joint recommendations of the Italian Society of Dermatology and Venereology (SIDEmaST), Italian Association of Hospital Dermatologists (ADOI), and Italian Society of Allergological, Occupational and Environmental Dermatology (SIDAPA). *G Ital Dermatol Venereol* 2020;155(1):1–7. <https://doi.org/10.23736/S0392-0488.19.06522-2>.
19. Lim HJ, Han MH, Lee EH et al. Increased expression of interleukin-12 in lesional skin of atopic dermatitis patients with psoriasiform features on histopathology: an immunohistochemical study. *Ann Dermatol*. 2020;32(1):31–37. <https://doi.org/10.5021/ad.2020.32.1.31>.
20. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике: Руководство. Под ред. П.Г. Малькова, Г.А. Франка. М.; 2011. С. 22–56. Fundamentals of Quality Assurance in Histological Laboratory Technology: A Guide. Ed. PG Malkov, GA Frank. M.; 2011. pp. 22–56. (In Russ.).
21. Patterson JW, eds. Weedon's Skin Pathology. 4th ed. Elsevier Limited; 2016. pp. 82–89; 123–125.
22. Hall BJ, eds. Diagnostic pathology. Nonneoplastic dermatopathology. 2nd edition, Elsevier; 2017. pp. 4–5; 32–33.
23. Цветкова Г.М., Мордовцева В.В., Вавилов А.М., Мордовцев В.Н. Патоморфология болезней кожи: Руководство для

врачей. М. ; Медицина. 2003. С. 87–91, 120–127.

Tsvetkova GM, Mordovtseva VV, Vavilov AM, Mordovtsev VN. Pathomorphology of skin diseases: A guide for doctors. М. ; Medicine. 2003. pp. 87–91, 120–127. (In Russ.).

23. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство М ; Медицина. 1990. С. 58–138.

Avtandilov GG. Medical morphometry: guide M ; Medicine. 1990. pp. 58–138. (In Russ.).

24. Nomura T, Wu J, Kabashima K, Guttman-Yassky E. Endophenotypic variations of atopic dermatitis by age, race, and ethnicity. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8(6),1840–1852. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.02.022>.

25. Brunner PM, Guttman-Yassky E. Racial differences in atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2019;122(5),449–455. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2018.11.015>.

26. Nicholas MN, Chan AR, Hessami-Booshehri M. (). Psoriasis in patients of color: differences in morphology, clinical presentation, and treatment. *Cutis* 2020;106(2S),7–E10. <https://doi.org/10.12788/cutis.0038>.

27. Guttman-Yassky E, Nograles KE, Krueger JG. Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis-part I: clinical and pathologic concepts. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(5):1110–1118. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.053>.

28. Guttman-Yassky E, Nograles KE, Krueger JG. Contrasting pathogenesis of atopic dermatitis and psoriasis--part II: immune cell subsets and therapeutic concepts. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(6):1420–1432. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.054>.

29. Brunner PM, Israel A, Zhang N et al. Early-onset pediatric atopic dermatitis is characterized by T_H2/T_H17/T_H22-centered inflammation and lipid alterations. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141(6):2094–2106. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.02.040>.

30. Vičić M, Kaštelan M, Brajac I et al. Current concepts of psoriasis immunopathogenesis. *Int J Mol Sci* 2021;22(21):11574. <https://doi.org/10.3390/ijms222111574>.

31. Tsai YC, Tsai TF. Overlapping features of psoriasis and atopic dermatitis: from genetics to immunopathogenesis to phenotypes. *Int J Mol Sci* 2022;23(10):5518. <https://doi.org/10.3390/ijms23105518>.

Сведения об авторах:

Наталья Владимировна Юрина – аспирант;
Татьяна Агустовна Агеева – доктор медицинских наук;

Оксана Алексеевна Makeenko – ассистент кафедры;

Илья Русланович Еремеев – студент;

Ирина Геннадьевна Сергеева – доктор медицинских наук.

Information about the authors:

Natalya V. Yurina – Postgraduate student;
Tatyana A. Ageeva – Doctor of Science (Medicine);

Oksana A. Makeenko – Department assistant;

Ilya R. Eremeev – Student;

Irina G. Sergeeva – Doctor of Science (Medicine).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Ethics approval The study complies is approved by the local ethics committee.

Информированное согласие подписали пациенты и их законные представители.

Informed consent was signed by patients and the patient's legal representative.

Статья поступила в редакцию 15.02.2023; одобрена после рецензирования 30.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 15.02.2023; approved after reviewing 30.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛАЦЕНТ У БЕРЕМЕННЫХ С КРИТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ЛЕГКИХ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19Е.Е. Воропаева¹, Ю.В. Хайдукова², Э.А. Казачкова³, Е.Л. Казачков⁴, Т.Н. Шамаева⁵,
А.А. Алиева⁶, Л.С. Ищенко⁷, А.Ю. Холопова⁸, Г.В. Сычугов⁹

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹katya_voropaeva@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0800-3380²jumi.06@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8751-7149³kazachkova@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1672-7058⁴doctorkel@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-4512-3421⁵shamtan@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6327-2685⁶alievaa.ak@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6270-8707⁷lyudalyn@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9405-0134⁸cherry_lady33@mail.ru ORCID: 0000-0001-5559-0069⁹docsgv@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3251-6944**Аннотация**

Введение. Вероятность неблагоприятного перинатального исхода при новой коронавирусной инфекции (НКИ) COVID-19 повышается с ростом объема поражения легочной ткани и коррелирует со степенью выраженности дыхательной недостаточности (ДН). При этом перинатальные исходы и структурные изменения плацент у беременных с критическим поражением легких при НКИ COVID-19 изучены недостаточно. **Цель исследования** – определить перинатальные исходы и характер плацентарных повреждений у беременных с критическим поражением легких при новой коронавирусной инфекции COVID-19. Материалы и методы. Проведено проспективное когортное сравнительное исследование с последующим ретроспективным анализом перинатальных исходов и результатов гистологического изучения плацент у 53 беременных с НКИ COVID-19. Сформированы две группы: 1 группа – 25 женщин с НКИ COVID-19, осложненной внебольничной пневмонией с критическим поражением легких (КТ-4, 76% и более); 2 группа – 28 беременных с НКИ COVID-19, осложненной внебольничной пневмонией со среднетяжелым поражением легких (КТ-2, 25-50%). Проведен анализ перинатальных исходов и результатов морфологического исследования плацент с использованием положений классификации повреждений плаценты, разработанной Amsterdam Placenta Workshop Group (2014). **Результаты.** В основной группе отсутствовали дети, рожденные с признаками задержки роста плода (ЗРП), а в группе сравнения таких детей было 8,7%. У 1 (4,3%) живорожденного 2 группы непосредственно после рождения в мазке из носоглотки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) диагностирован антиген SARS-CoV-2. В последующем ребенок умер в постнеонатальном периоде на 33 сутки жизни. Антенатальная гибель плодов у женщин 1 группы явилась результатом выраженной гипоксии матери и экстремально ранних преждевременных родов (ПР), во 2 группе – следствием плацентарных повреждений. У всех пациенток с НКИ COVID-19, осложненной критическим поражением легких, и со среднетяжелым поражением легких, идентифицирован широкий спектр плацентарных повреждений, включающий материнскую и плодovou мальперфузию, материнский и фетальный воспалительный ответ. **Обсуждение.** Плаценты беременных, родоразрешенных ввиду критического состояния, не имеют выраженных воспалительных и дистрофических нарушений, характеризующихся явлениями острой плацентарной недостаточности (ПН). Напротив, плаценты женщин, успешно завершивших лечение НКИ COVID-19 средней степени тяжести и благополучно родоразрешенных на поздних сроках беременности, демонстрируют весь спектр воспалительных и гипоксических повреждений, приводящих к субкомпенсированной и декомпенсированной ПН. **Заключение.** В плацентах женщин с НКИ COVID-19 и критическим поражением легких регистрируются слабо выраженные дистрофические процессы, лимфоцитарная инфильтрация децидуальной и плодной оболочек, признаки частичной сосудистой мальперфузии материнского отдела плаценты и фетальных стромально-сосудистых повреждений, явления острой ПН. Отсутствие в плацентах этих пациенток выраженной воспалительной инфильтрации ворсин и плодных оболочек, дистрофических процессов, межворсинковых тромбозов и инфарктов ворсин, реализующихся в декомпенсированную ПН, обусловлено незамедлительным родоразрешением беременных с критическим поражением легких при НКИ COVID-19.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, критическое поражение легких, перинатальные исходы, структурные изменения плацент.

Для цитирования: Воропаева Е.Е., Хайдукова Ю.В., Казачкова Э.А. с соавт. Перинатальные исходы и результаты морфологического исследования плацент у беременных с критическим поражением легких при новой коронавирусной инфекции COVID-19. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):109-121. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-109-121>.

© Воропаева Е.Е., Хайдукова Ю.В., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Шамаева Т.Н., Алиева А.А., Ищенко Л.С., Холопова А.Ю., Сычугов Г.В., 2023

© Voropaeva E.E., Khaidukova Yu.V., Kazachkova E.A., Kazachkov E.L., Shamaeva T.N., Aliyev A.A., Ishchenko L.S., Holopova A.YU., Sychugov G.V., 2023

PERINATAL OUTCOMES AND MORPHOLOGICAL EXAMINATION OF PLACENTAS IN PREGNANT WOMEN WITH CRITICAL LUNG LESIONS IN NEW COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION

E.E. Voropaeva¹, Yu.V. Khaidukova², E.A. Kazachkova³, E.L. Kazachkov⁴, T.N. Shamaeva⁵, A.A. Aliyeva⁶, L.S. Ishchenko⁷, A.YU. Holopova⁸, G.V. Sychugov⁹

South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹katya_voropaeva@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0800-3380

²jumi.06@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8751-7149

³kazachkovaea@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1672-7058

⁴doctorkel@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-4512-3421

⁵shamtan@rambler.ru, ORCID: 0000-0001-6327-2685

⁶alievaa.ak@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6270-8707

⁷lyudalyn@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9405-0134

⁸cherry_lady33@mail.ru ORCID: 0000-0001-5559-0069

⁹docsgv@gmail.com, ORCID: 0000-0003-3251-6944

Abstract

Introduction The likelihood of adverse perinatal outcome in new coronavirus infection (NKI) COVID-19 increases with the volume of lung tissue damage and correlates with the severity of respiratory failure (DN). Nevertheless, perinatal outcomes and placenta structural changes in pregnant women with critical lung lesions during NKI COVID-19 have been insufficiently studied. **The objective** of this investigation was to determine perinatal outcomes and the nature of placental lesions in pregnant women with critical lung injury during novel COVID-19 coronavirus infection. **Material and methods** A prospective cohort comparative study was conducted, with subsequent retrospective analysis of perinatal outcomes and the results of histologic examination of the placentas in 53 pregnant women with COVID-19 NCI. Group 1 was composed of 25 women with NKI COVID-19 complicated by community-acquired pneumonia with critical lung injury (KT-4, 76% or more); Group 2 was composed of 28 pregnant women with NKI COVID-19 complicated by community-acquired pneumonia with moderate-to-severe lung injury (KT-2, 25-50%). Perinatal outcomes and the results of morphological examination of the placenta were analyzed using the provisions of the classification of placental injuries developed by the Amsterdam Placenta Workshop Group (2014). **Results** In the main group, there were no children born with signs of miscarriage, while in the comparison group there were 8.7% of such children. SARS-CoV-2 antigen was diagnosed in a nasopharyngeal swab immediately after birth in 1 (4.3%) live-born infant in group 2 by PCR. The child died in the postnatal period on the 33rd day of life. Antenatal fetal death in women of Group 1 was the result of marked maternal hypoxia and extremely early PP, in Group 2 - the consequence of placental lesions. A wide spectrum of placental damages, including maternal and fetal malperfusion, maternal and fetal COVID-19 complicated by critical lung injury and with moderate lung injury. **Discussion** The placentas of pregnant women delivered due to critical condition do not have pronounced inflammatory and dis-trophic disorders, being characterized by the phenomena of acute PU. On the contrary, the placentas of women who successfully completed treatment with COVID-19 NKI of moderate severity and safely delivered at late gestational age exhibit the full spectrum of inflammatory and hypoxic lesions, leading to subcompensated and decompensated PU. **Conclusion** Weakly pronounced dystrophic processes, lymphocytic infiltration of the decidua and fetal membranes, signs of partial maternal vascular malperfusion and fetal stromal-vascular lesions, and acute PU phenomena were recorded in the placentas of women with NCI COVID-19 and critical pulmonary lesions. The absence of marked inflammatory infiltration of villi and fetal membranes, dystrophic processes, intervillous thrombosis, and villous infarcts realized in decompensated PU in the placentas of these patients was due to the immediate delivery of pregnant women with critical pulmonary lesions in NCI COVID-19. **Key words:** new coronavirus infection, critical lung injury, perinatal outcomes, morphological findings of placentas.

For citation:

Voropaeva EE, Khaidukova YuV, Kazachkova EA et al. Perinatal outcomes and morphological examination of placentas in pregnant women with critical lung lesions in new COVID-19 coronavirus infection. Ural medical journal 2023;22(2):109-121. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-109-121>

ВВЕДЕНИЕ

В течение трех лет население большинства стран мира пребывает в условиях пандемии НКИ COVID-19, вызванной вирусом SARS-CoV-2. У беременных женщин заболевание протекает в разных формах – от бессимптомных до крайне тяжелых [1, 2]. НКИ COVID-19 – преимущественно респираторное заболевание с мультисистемными проявлениями [3]. Вероятность неблагоприятного исхода повышается с ростом объема поражения легочной ткани и коррелирует со степенью выраженности ДН [4]. Объем поражения легочной ткани, установленный с помощью КТ более 76% (КТ-4), расценивается как критический. При этом перинатальные исходы и структурные изменения плацент у беременных с критическим поражением легких при НКИ COVID-19 изучены недостаточно.

Цель исследования – определить перинатальные исходы и характер плацентарных повреждений у беременных с критическим поражением легких при новой коронавирусной инфекции COVID-19.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное когортное сравнительное исследование с последующим ретроспективным анализом перинатальных исходов и результатов морфологического изучения плацент у 53 беременных, получавших лечение в родильном доме госпитальной базы ГБУЗ «Областная клиническая больница № 2» г. Челябинск в 2020–2021 гг. Метод исследования – сплошной направленный по обращаемости.

1 группу (основную) составили 25 женщин с НКИ COVID-19, осложненной внебольничной пневмонией с критическим поражением легких (КТ-4, 76% и более). Во 2 группу (группа сравнения) вошли 28 беременных с НКИ COVID-19, осложненной внебольничной пневмонией со среднетяжелым поражением легких (КТ-2, 25-50%).

Критерии включения: одноплодная спонтанно наступившая беременность, репродуктивный возраст, идентифицированный антиген SARS-CoV-2 в назофарингеальном материале, внебольничная пневмония с поражением легких 76-100% для основной группы и 25-50% – для группы сравнения, письменное информированное согласие пациенток на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати, наличие и доступность медицинской документации.

Критерии не включения: аутоиммунные и ревматические болезни, эндокринные заболевания в стадии декомпенсации, злокачественные опухоли, туберкулез, ВИЧ-инфекция, психиатрические заболевания, хронический алкоголизм, наркомания, заболевания кожи, отсутствие письменного информированного согласия пациенток на участие в исследовании и/или публикацию его результатов в открытой печати, отсутствие или недоступность

медицинской документации.

Использовали данные следующих медицинских документов: индивидуальная медицинская карта беременной и родильницы – форма №111/у-20, история родов – форма №096/у-20, история развития новорожденного – форма №097/у, протокол патологоанатомического вскрытия плода, мертворожденного или новорожденного – форма 013/у.

Обследование и лечение пациенток проводили в соответствии с действующими на момент поступления пациентки временными рекомендациями (Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 13.1 (17.11.2021);68-72; Методические рекомендации «Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19 (Версия 4 от 05.07.2021);6-86). КТ проводили по жизненным показаниям с использованием рентгенозащитной «юбки» для снижения радиоволнового воздействия на плод, объем поражения легких оценивали по специальным шкалам [5, 6]. При обследовании и лечении беременных руководствовались также приказом Минздрава России от 20 октября 2020 года №1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология»» (Приказ Минздрава России от 20.10.2020 №1130н (Зарегистрировано в Минюсте России 12.11.2020 №60869).

Диагноз НКИ COVID-19 устанавливали на основании положительного анализа при проведении ПЦР на РНК SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки, данных эпидемиологического анамнеза, объективного и лабораторного обследования, специфических изменений по данным КТ легких.

Исследование последов включало тщательный макроскопический анализ с последующим микроскопическим изучением тканевого материала [7]. Для микроскопического исследования иссекалось по 1 фрагменту из парацентральной зоны плацентарного диска со стороны хориальной и базальной пластины, из экстраплацентарных оболочек производилась вырезка ленты шириной 0,7 см, которая затем скручивалась в ролл, из пуповины. Образцы последа фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине, обезживали в 99% изопропанол, заливали в парафин по стандартной методике [8, 9]. На ротормом микротоме готовили срезы толщиной 5 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином с целью проведения обзорной микроскопии.

При описании плацентарных повреждений использовали предложенную в 2014 г. классификацию повреждений плаценты, разработанную Amsterdam Placenta Workshop Group, включающую плацентарные сосудистые повреждения, плацентарные воспалительно-иммунные повреждения, другие плацентарные процессы (повреждения)

[10, 11]. Такая идентификация плацентарных нарушений имеет важную клиническую значимость, так как позволяет определить причины развившихся осложнений, разработать алгоритм необходимого обследования и лечения родильницы и новорожденного, повысить эффективность персонализированной прегравидарной реабилитации в будущем [12, 13].

Для оценки и документирования структурных перестроек плаценты получали микрофотографии образцов ткани с помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа «Carl Zeiss PrimoStar», цифровой камеры «Pixera Pro 150ES», персонального компьютера на базе Intel® Core™ i7. Для фотографирования случайным образом отбирались участки хориальной пластины и иных тканевых структур. Из фотосъемки исключали поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты. Фотосъемку проводили при увеличении 100 (окуляр 10, объектив 10) или 200 (окуляр 10, объектив 20) с полным закрытием апертурной диафрагмы, при поднятом конденсоре, время экспозиции 4,11 мс, размер изображения 1024×768 пикселей, графический формат изображения JPEG.

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили в программе IBM SPSS Statistic 19. Анализ количественных показателей с использованием критерия Колмогорова-Смирнова показал, что оцениваемые параметры не подчинились закону нормального распределения, поэтому для математической обработки данных использовали непараметрические методы математической статистики. В качестве показателей описательной статистики рассчитывали для качественных признаков – абсолютную и относительную частоту (в %), для количественных признаков был использован процентильный метод (Me – 50-й процентиль, Q1 и Q3 – 25-й и 75-й процентиля соответственно) в формате Me (Q1;Q3). При сравнении по количественному признаку двух независимых выборок применяли U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения качественных показателей использовали Хи-квадрат Пирсона (χ^2) или точный критерий Фишера в случаях, когда количество ячеек таблиц сопряженности, в которых ожидаемая частота меньше 5, было больше 0%. Проверка статистических гипотез проводилась по критериям значимости (p), равном 0,05 [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1 группе манифестация НКИ COVID-19 у 8 из 25 пациенток (32%) произошла во II триместре беременности, у 17 из 25 (68%) – в III триместре; во 2 группе: у 9 из 28 (32,1%) – во II триместре, у 19 из 28 (67,9%) – в III триместре беременности.

25 беременных с критическим поражением легких (1 группа) распределились по волнам инфекционного процесса следующим образом: по 3

женщины – в 1 и 2 волну, 8 женщин – в 3 волну и 11 женщин – в 4 волну заболевания. В группе сравнения 26 женщин поступили в 3 волну, 2 женщины – в 4 волну НКИ COVID-19.

Беременные обеих групп госпитализированы в стационар, в среднем, на 6 (2; 11) день болезни. Ни одна пациентка исследуемых групп не была вакцинирована от НКИ COVID-19. Все беременные имели положительный результат ПЦР на SARS-CoV-2 в мазке из носоглотки. Ведущими жалобами у 100% женщин обеих групп были фебрильная лихорадка и сухой малопродуктивный кашель, каждая четвертая отмечала явления аносмии и боли в грудной клетке, треть женщин жаловалась на заложенность носа. При поступлении пациентки основной группы статистически значимо чаще предъявляли жалобы на одышку, общую слабость, сердцебиение ($p=0,035$).

Пациентки обеих групп статистически значимо не отличались по месту жительства, национальности, уровню образования, сфере занятости, практически не имели вредных привычек, с ранних сроков беременности наблюдались в женской консультации. Медиана возраста беременных 1 группы составила 33 (24,8; 38,5) года, в то время как женщины 2 группы были моложе – 29 (18; 43) лет ($p=0,183$). Срок гестации, при котором развилась НКИ COVID-19, – 31 (18; 35) неделя и 32 (20; 38) недели соответственно группам.

Соматический анамнез большинства беременных исследуемых групп был отягощен. При критическом поражении легких чаще, чем в группе сравнения, диагностировали хроническую артериальную гипертензию, варикозную болезнь вен нижних конечностей, заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, системную красную волчанку в неактивной фазе, хроническую анемию, однако различия не были статистически значимыми. С равной частотой в обеих группах встречались болезни органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы, различные травмы и оперативные вмешательства, лекарственная аллергия.

Среди пациенток основной группы не было первобеременных женщин против 9/28 (32,1%) в группе сравнения ($p=0,002$). В основной группе статистически значимо чаще встречались повторнородящие ($p=0,009$), в том числе рожающие третий и более раз ($p=0,003$). Акушерский анамнез пациенток в исследуемых группах был отягощен хирургическими абортами и самопроизвольными выкидышами в равной степени. Гинекологические заболевания в анамнезе (преимущественно доброкачественные заболевания матки и яичников, воспалительные болезни женских тазовых органов) с одинаковой частотой встречались у женщин обеих групп.

Течение беременности наблюдаемых пациенток осложнилось преимущественно анемией,

угрожающим абортom и ложными схватками, отеками, вызванными беременностью, плацентарными нарушениями, без статистически значимых различий между группами. Следует отметить, что ПН, впервые выявленная на фоне НКИ COVID-19, отмечена у 12 из 25 (48%) и 9 из 28 (32,1%) беременных 1 и 2 группы соответственно, при этом декомпенсация ПН в разгар заболевания зафиксирована у 3 из 25 (12%) женщин основной группы. У 2 из 28 (7,1%) пациенток группы сравнения после выздоровления на поздних сроках беременности реализовалась ЗРП. У 16 из 25 (64%) женщин с критическим поражением легких и у 9 из 28 (31,2%) пациенток группы сравнения ($p=0,05$) диагностирован гестационный сахарный диабет, что демонстрирует влияние нарушения углеводного обмена на тяжесть течения НКИ COVID-19 и степень поражения легочной ткани. У 6 из 28 (21,4%) пациенток 2 группы на фоне лечения НКИ COVID-19, а также после успешного его завершения, на более поздних сроках беременности развилась клиника угрожающих ПР, чего не имело места в 1 группе ($p=0,05$). В группе беременных с критическим поражением легких наблюдали один случай тяжелой преэклампсии.

Завершили беременность все беременные основной группы и группы сравнения. Роды произошли у 25 (100%) женщин 1 группы и у 28 (100%) 2 группы. При этом роды через естественные родовые пути статистически значимо чаще происходили у беременных группы сравнения: 13 из 28 (46,4%) против 4 из 25 (16%) в 1 группе ($p=0,022$). Все роды через естественные родовые пути у женщин с критическим поражением легких были преждевременными, 3 из 4 (75%) из них – индуцированными по тяжести состояния матери. В родах предоставляли спинальную анальгезию, процесс родов сопровождался непрерывной кардиотокографией плода, роды вели без коррекции, аномалий родового акта не было.

Роды были оперативными статистически значимо чаще у женщин 1 группы – 21 из 25 (84%) против 15 из 28 (53,6%) во 2 группе ($p=0,043$). При этом во II триместре беременности родоразрешены путем операции кесарева сечения (КС) 7 из 21 (33,3%) женщин 1 группы и 1 из 21 (4,8%) беременная 2 группы ($p=0,02$). КС у всех пациенток с критическим поражением легких проводили преимущественно под нейроаксиальной анестезией на фоне дифференцированной респираторной поддержки в неотложном порядке. Показаниями к оперативному родоразрешению явились нарастание ДН у беременной на фоне комплексной интенсивной терапии, в каждом третьем случае – в сочетании с явлениями дистресса плода. 15 из 28 (53,57%) женщин 2 группы родоразрешены путем операции КС по показаниям, не связанными с НКИ COVID-19: 6 из 15 (40%) – рубец на матке в сочетании с другой акушерской патологией, 3 из

15 (20%) – тазовое предлежание крупного плода, 2 из 15 (13,3%) – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, 2 из 15 (13,3%) – дистресс плода, 1 из 15 (6,7%) – клинически узкий таз, 1 из 15 (6,7%) – крайне отягощенный акушерско-гинекологический анамнез. Следует отметить меконияльный характер околоплодных вод в 6 из 28 (21,4%) случаях родов у пациенток 2 группы, в то время как околоплодные воды рожениц 1 группы были светлые ($p=0,016$).

При критическом поражении легких преобладали ПР. Так, родили преждевременно 24 из 25 (96%) пациенток 1 группы, в то время как в группе сравнения произошло 9 из 26 (32,1%) ПР ($p=0,000$). В основной группе на сроке 22–27 недель родоразрешены 7 из 25 (28%) женщин, на сроке 28–34 недели – 10 из 25 (40%), на сроке 35–36 недель – 7 из 25 (28%), на сроке 37 недель – 1 из 25 (4%). В группе сравнения 5 из 28 (17,9%) женщин родоразрешены на сроке 28–34 недель, по 2 из 28 (7,1%) – на сроках 22–27 недель и 35–36 недель, 19 из 28 (67,9%) – на сроках 37 недель и более.

Случаи антенатальной гибели плода были зафиксированы у 2 из 25 (8%) женщин 1 группы и 5 из 28 (17,9%) женщин 2 группы ($p=0,087$). У 2 из 25 женщин с критическим поражением легких и крайне тяжелым течением НКИ COVID-19 антенатальная гибель плода произошла на сроке 22–23 недели, вес мертворожденных составил 480,0 и 620,0 г. Антенатальная гибель плодов у 5 из 28 женщин группы сравнения наступила в разгар заболевания, на сроке 24–35 недель беременности, вес плодов составил от 575,0 до 2520,0 г.

С целью профилактики заражения НКИ COVID-19 все новорожденные были изолированы от матерей. Первичная реанимация новорожденных в родильном зале потребовалась в 100% наблюдений 1 группы. Антропометрические показатели новорожденных от матерей, перенесших НКИ COVID-19, осложненной критическим поражением легких, статистически значимо отличались от таковых при среднетяжелой форме НКИ COVID-19. Так, медиана веса ребенка в 1 группе составила 1900 г (590; 3127), тогда как во 2 группе – 3080 г (685; 4150) ($p=0,000$), медиана длины тела – 43 см (27; 49) и 50 см (31; 56) соответственно группам ($p=0,000$). Оценка по шкале Апгар на 1 и 5 минуте была статистически значимо лучше у детей от матерей 2 группы. В 1 группе медиана оценки по шкале Апгар на 1 минуте составила 5 баллов (2; 7), на 5 минуте – 6 баллов (3; 8), во 2 группе на 1 минуте – 8 баллов (3; 8), на 5 минуте – 8 баллов (7; 9) ($p=0,00$). Данные статистически значимые различия можно объяснить индуцированными ПР, преобладающими в когорте женщин с критическим поражением легких.

100% живорожденных детей от матерей с критическим поражением легких требовали наблюдения и лечения в отделении детской реанимации.

На респираторной поддержке находились 15 из 23 (65%) детей от матерей основной группы (искусственная вентиляция легких (ИВЛ) – 11, неинвазивная искусственная вентиляция легких (НИВЛ) – 4). Препараты сурфактанта, в том числе неоднократно, получили 12 из 15 (80%) детей. 4 из 23 (17,4%) ребенка родились с экстремально низкой массой тела, 7 из 23 (30,4%) – с очень низкой массой тела при рождении. Всех детей переводили на этапы выхаживания. В группе сравнения 3 из 23 (13%) живорожденных детей нуждались в респираторной поддержке (ИВЛ – 1, НИВЛ – 2) ($p=0,000$).

Следует отметить, что в основной группе отсутствовали дети, рожденные с признаками ЗРП, а в группе сравнения таких детей было 2 из 23 (8,7%). У 1 из 23 (4,3%) живорожденного 2 группы при условии скрупулезного соблюдения санитарно-противоэпидемических норм методом ПЦР в мазке из носоглотки диагностирован антиген SARS-CoV-2.

Случаев неонатальной и младенческой смерти детей от матерей основной группы не было. В группе сравнения 1 из 23 (4,3%) ребенок, родившийся на сроке 35–36 недель беременности, умер в постнеонатальном периоде на 33 сутки жизни.

Основным заболеванием и первоначальной причиной смерти явилась НКИ COVID-19, тяжелая форма (объем поражения легочной ткани 96%), вирус идентифицирован (код по МКБ-10 – U 07.1), с развитием острого респираторного дистресс-синдрома. При этом вирус SARS-CoV-2 был идентифицирован из назофарингеального материала новорожденного (неоднократно) при жизни, в паренхиме легких, трахее, миокарде и ткани селезенки – посмертно.

При патологоанатомическом исследовании плацент женщин 1 группы обращали на себя внимание слабовыраженные дистрофические процессы, явления острой ПН, единичные случаи лимфоцитарной инфильтрации децидуа и плодных оболочек. Во всех плацентах этой группы присутствовали признаки частичной сосудистой мальперфузии материнского отдела, свидетельствующие о гипоксическом повреждении плаценты, ускоренном созревании ворсин и приводящие к плацентарной дисфункции и ПН. При этом регистрировалось наличие агглютинированных ворсинок, межворсинкового фибрина, высокое представительство синцитиальных узелков, иногда явления краевой отслойки плаценты (рис. 1).

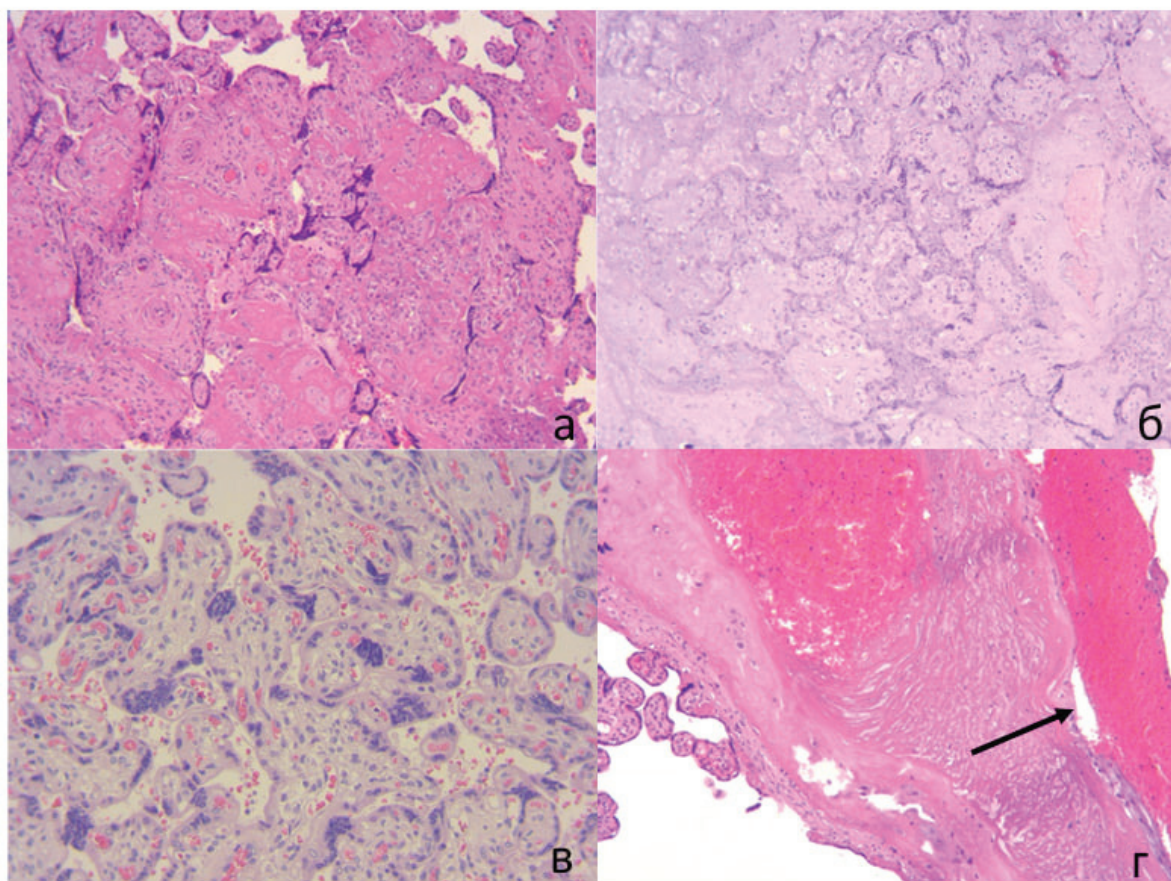


Рис. 1. Морфологическая характеристика повреждений материнского стромально-сосудистого отдела плаценты пациентки 1 группы: а – агглютинация ворсинок; б – наличие межворсинкового фибрина; в – увеличение количества синцитиальных узелков; г – хроническая краевая отслойка плаценты (указано стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. а, б, г – $\times 100$; в – $\times 200$.

Кроме повреждения материнского стромально-сосудистого отдела плаценты, у пациенток 1 группы выявлялось нарушение кровоснабжения плода в виде фетальных стромально-сосудистых повреждений, таких как хорангиоз и хорангиоматоз, дистальная незрелость ворсин, местами встречались скопления гиалинизированных аваскулярных ворсин. Выявленные фетальные стромально-сосудистые повреждения свидетельствовали о начинающемся угнетении компенсаторных процессов в плаценте и формировании острой ПН (рис. 2).

Напротив, плаценты пациенток, перенесших при беременности НКИ COVID-19 с поражением легких до 50% и выписанных с прогрессирующей беременностью, демонстрировали картину гораздо более тяжелых нарушений: выраженные дистрофические процессы, тотальная воспалительная инфильтрация ворсин и плодных оболочек, межворсинковые тромбозы и инфаркты ворсин при

явлениях острой ПН на фоне хронической декомпенсированной ПН (рис. 3 и 4).

Причиной антенатальной гибели двух плодов от матерей 1 группы явилась антенатальная гипоксия вследствие острой ПН. При этом воспалительных изменений плаценты зарегистрировано не было. Причиной мертворождения у 5 женщин 2 группы, напротив, явилась антенатальная гипоксия плода вследствие декомпенсации хронической ПН на фоне гематогенного инфицирования последа. При исследовании плаценты и оболочек во всех случаях мертворождения во 2 группе выявлен очаговый серозно-гнойный париетальный децидуит, продуктивный виллузит, в трех случаях из пяти – множественные псевдоинфаркты с нагноением.

В плаценте пациентки из 2 группы, ребенок которой умер в постнеонатальном периоде на 33 сутки, выявлены продуктивный виллузит, хорангиоз сосудов терминальных ворсин, умеренно выраженные компенсаторно-приспособительные реакции.

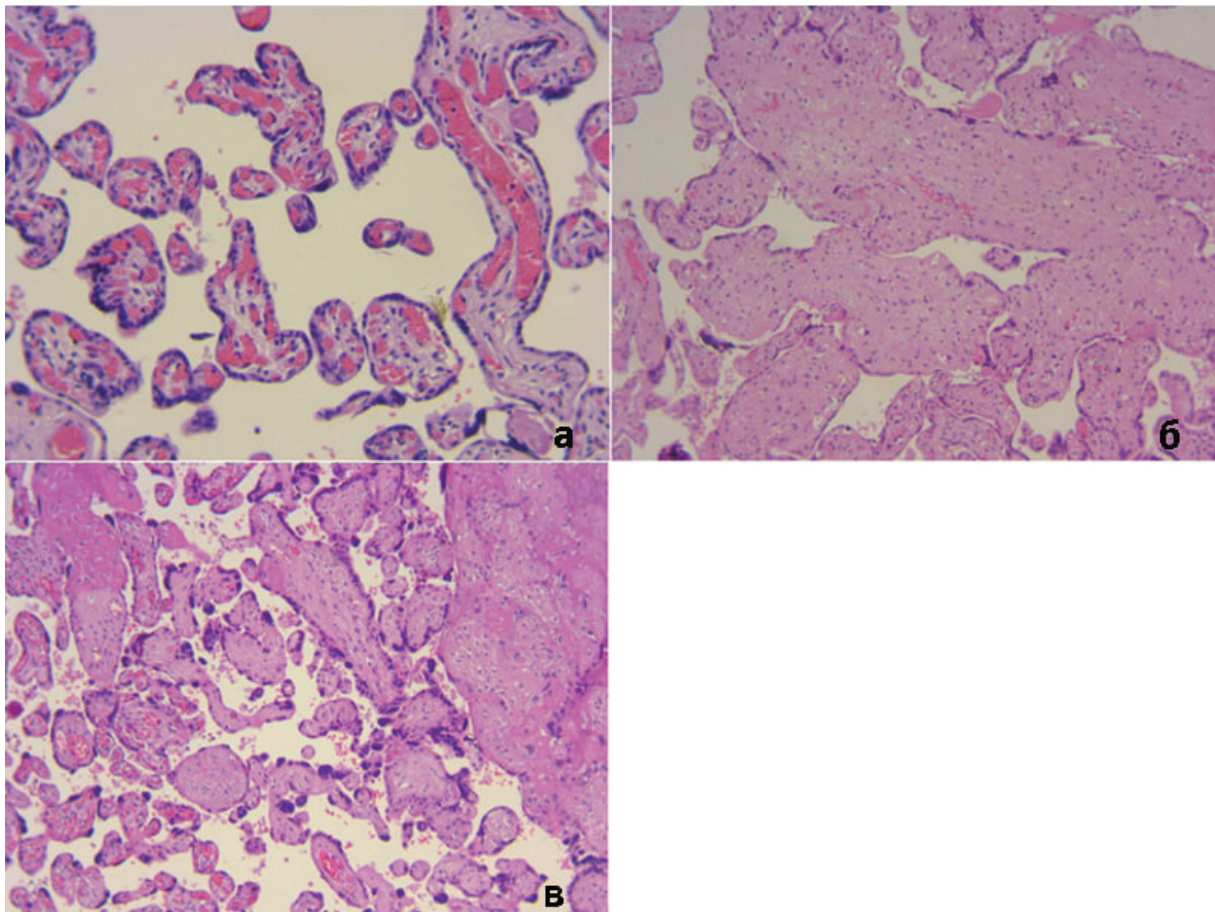


Рис. 2. Морфологическая характеристика повреждений фетального стромально-сосудистого отдела плаценты пациентки 1 группы: а – хорангиоз; б – дистальная незрелость ворсин; в – скопления гиалинизированных аваскулярных ворсин. Окраска гематоксилином и эозином. а – $\times 200$; б, в – $\times 100$.

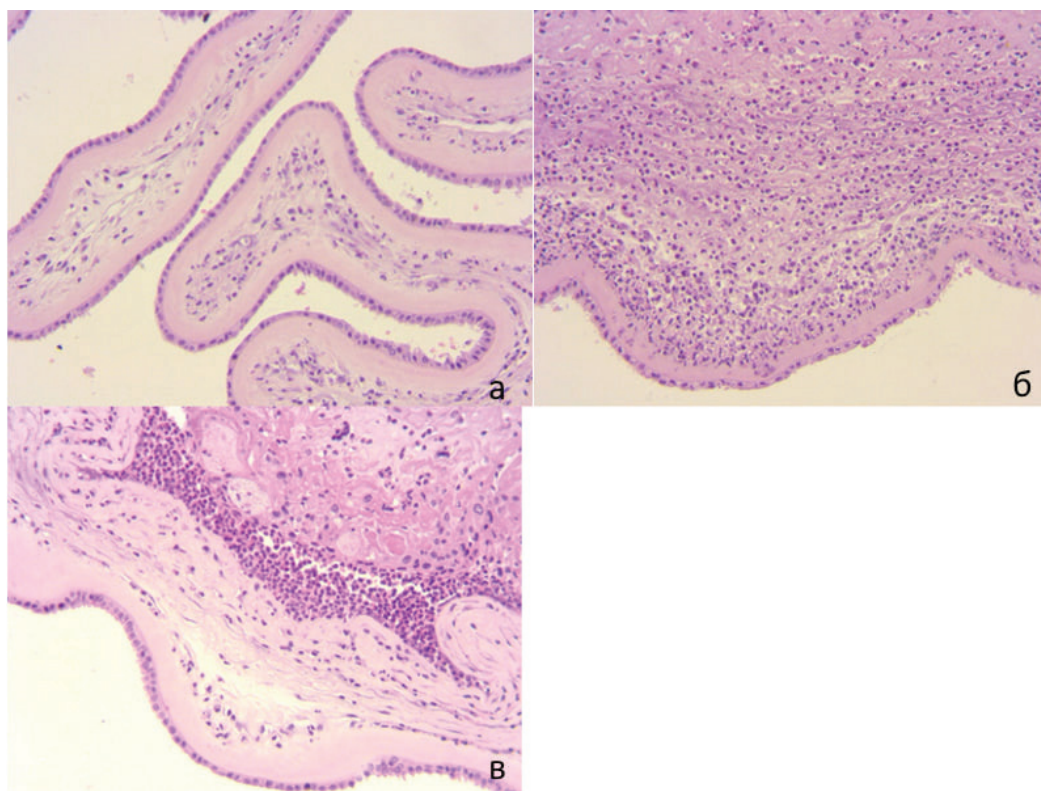


Рис. 3. Структурные изменения при остром инфекционно-воспалительном повреждении плаценты у пациенток 2 группы: материнский воспалительный ответ: а – стадия 2: острый хориоамнионит (инфильтрация нейтрофильными гранулоцитами хориальной пластинки и соединительной ткани хориона); б – стадия 3: некротизирующий хориоамнионит (кариорексис в нейтрофильных гранулоцитах); в – стадия 3: некротизирующий хориоамнионит (некроз эпителия амниона). Окраска гематоксилином и эозином. а–в – $\times 100$.

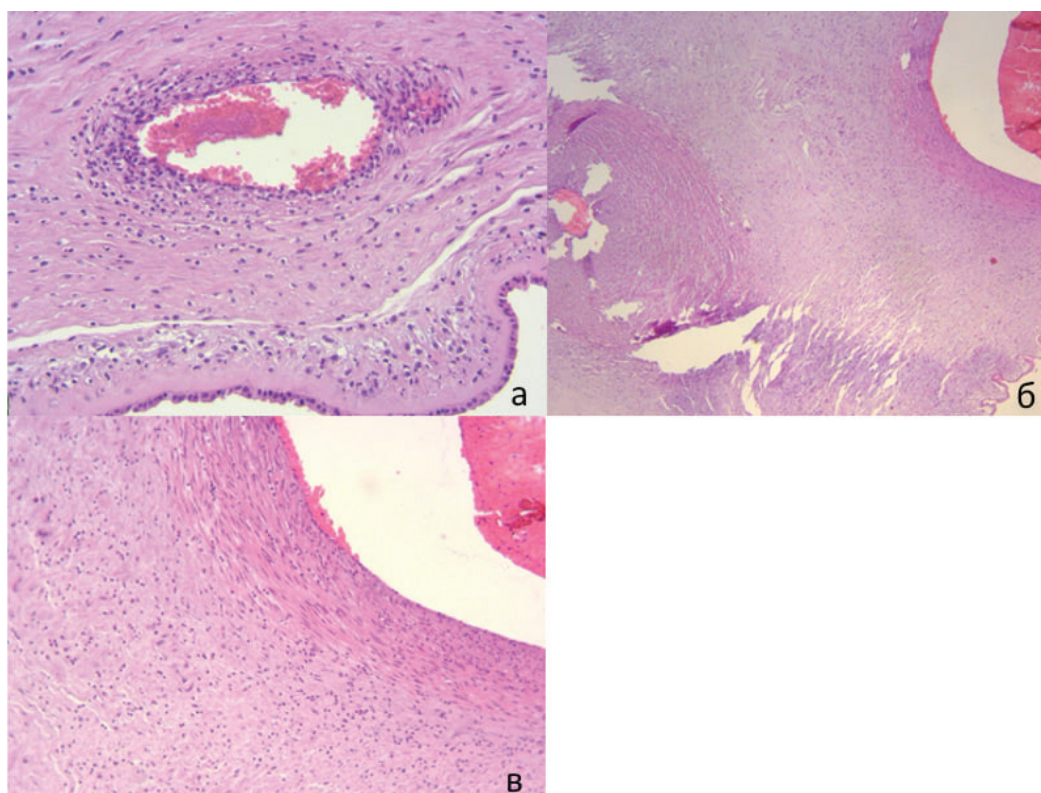


Рис. 4. Структурные изменения при остром инфекционно-воспалительном повреждении последа у пациенток 2 группы: фетальный воспалительный ответ: а – стадия 1: в воспалительный процесс вовлечены сосуды хориона (хориальный васкулит); б – стадия 2: воспаление пупочной вены и обеих пупочных артерий (панваскулит); в – стадия 3: некротизирующий фунизит. Окраска гематоксилином и эозином. а – $\times 200$; б – $\times 40$; в – $\times 100$.

ОБСУЖДЕНИЕ

НКИ COVID-19 у беременных, осложненная пневмонией с критическим поражением легких, привела к индуцированному досрочному родоразрешению в 100% случаев. По нашим данным, ПР состоялись у 96% беременных при критическом поражении лёгких и крайне тяжелом течении НКИ COVID-19, из них в 84% родоразрешение осуществлено путем операции КС, что согласуется с результатами исследований других авторов [15–17].

Прогрессирующая декомпенсированная ПН отмечена у 28% женщин 1 группы. Мы полагаем, что большинство осложнений у новорожденных, родившихся от матерей с НКИ COVID-19 – результат недоношенности, а не инфекции COVID-19. При этом следует отметить, что в основной группе отсутствовали дети, рожденные с признаками ЗРП, а в группе сравнения таких детей было 8,7%.

Как было показано, у 1 (4,3%) живорожденного 2 группы непосредственно после рождения при условии скрупулезного соблюдения санитарно-противоэпидемических норм в мазке из носоглотки методом ПЦР диагностирован антиген SARS-CoV-2. В последующем ребёнок умер в постнеонатальном периоде на 33 сутки жизни, при этом основным заболеванием и первоначальной причиной смерти явилась НКИ COVID-19, тяжёлая форма (объём поражения лёгочной ткани 96%), вирус идентифицирован (код по МКБ-10 – U 07.1), с развитием острого респираторного дистресс-синдрома. Этот факт согласуется с данными, полученными другими исследователями [18–23], о возможности вертикальной передачи вирусов SARS-CoV-2.

Аntenатальная гибель плодов у женщин 1 группы явилась результатом выраженной гипоксии матери и экстремально ранних ПР, во 2 группе – следствием плацентарных повреждений. Действительно, по данным литературы [24–27], НКИ COVID-19 способствует мертворождению, причём нередко в связи с острыми сосудистыми расстройствами в плаценте [28–30]. Так, З.А. Плотоненко с соавт. [31] описывают антенатальную гибель плода в 13,4% всех родов у женщин с НКИ COVID-19, связывая этот факт с плацентарными микротромбозами и длительной гипоксией матери, на что указывают и другие исследователи [32, 33], которые утверждают, что в некоторых субъектах РФ показатель мертворождения у беременных с НКИ COVID-19 составляет до 44,6%.

В доступной литературе встречаются разрозненные публикации, описывающие состояние плацент при тяжелом и крайне тяжелом течении НКИ COVID-19 [34–36]. Как правило, авторы приводят данные о более выраженных плацентарных нарушениях у женщин с тяжелой НКИ COVID-19, нарастающих по мере утяжеления состояния матери [37]. По нашим данным, у всех пациенток с НКИ COVID-19, осложненной внебольничной пневмонией и критическим поражением легких, и со средне-

тяжелым поражением легких, идентифицирован широкий спектр плацентарных повреждений, различных по выраженности и распространённости, многообразию комбинаций, включающий материнскую и плодовую мальперфузию, материнский и фетальный воспалительный ответ. При этом обращают на себя внимание массивные отложения фибрина в межворсинковом пространстве, фибриноидная агглютинация и инфаркты ворсин, выраженные дистрофические процессы, тотальная воспалительная инфильтрация ворсин и плодных оболочек в плацентах 2 группы при явлениях острой ПН на фоне хронической декомпенсированной ПН.

При наличии антенатальной гибели плода во всех наблюдениях имеет место сочетание выраженной материнской и плодовой сосудистой мальперфузии и острых тяжёлых воспалительных повреждений плаценты (2, 3 стадии и 2, 3 степени) как для материнского, так и для фетального воспалительного ответа, что приводит к декомпенсированной ПН. В то же время при отсутствии антенатальных потерь признаки повреждения материнского и фетального стромально-сосудистого отделов плаценты выражены в меньшей степени, сочетаются в половине случаев с хроническими формами воспаления плаценты (базальный децидуит, интервиллит). При этом плаценты беременных, родоразрешенных ввиду критического состояния, не имеют выраженных воспалительных и дистрофических нарушений, характеризуются явлениями острой ПН. Напротив, плаценты женщин, успешно завершивших лечение НКИ COVID-19 средней степени тяжести и благополучно родоразрешенных на поздних сроках беременности, демонстрируют весь спектр воспалительных и гипоксических повреждений, приводящих к субкомпенсированной и декомпенсированной ПН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При НКИ с критическим поражением лёгких статистически значимо преобладают индуцированные ПР (96%), в 84% проведенные путём операции КС. Показаниями к оперативному родоразрешению являются нарастание ДН беременной на фоне комплексной интенсивной терапии, в каждом третьем случае – в сочетании с дистрессом плода. Среди ПР 28% составляют экстремально ранние. В 8% регистрируется антенатальная гибель плода, причиной которой является антенатальная гипоксия вследствие острой ПН. Всем живорожденным от матерей с критическим поражением лёгких требуется первичная реанимация в родильном зале, наблюдение и лечение в отделении детской реанимации и на этапах выхаживания недоношенных детей.

В плацентах женщин с НКИ COVID-19 и критическим поражением лёгких регистрируются слабо выраженные дистрофические процессы,

лимфоцитарная инфильтрация децидуальной и плодной оболочек, признаки частичной сосудистой мальперфузии материнского отдела плаценты и фетальных стромально-сосудистых повреждений, явления острой ПН. Полагаем, что отсутствие в плацентах этих пациенток выраженной воспалительной инфильтрации ворсин

и плодных оболочек, дистрофических процессов, межворсинковых тромбозов и инфарктов ворсин, реализующихся в декомпенсированную ПН, обусловлено незамедлительным родоразрешением беременных с критическим поражением лёгких при НКИ COVID-19 по тяжести состояния матери.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Воропаева Е.Е., Ищенко Л.С., Михайлова С.А. с соавт. Благоприятный исход крайне тяжелого течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 при беременности с тотальным поражением легких, острым миокардитом и инфарктом миокарда. *Акушерство и гинекология* 2021;10:179–186. <https://doi.org/10.18565/aig.2021.10.179-186>.
Voropaeva EE, Ishchenko LS, Mikhailova SA et al. Favorable outcome of the extremely severe course of the new coronavirus infection COVID-19 in pregnancy with total lung damage, acute myocarditis and myocardial infarction. *Obstetrics and gynecology* 2021;10:179-186. (In Russ.). <https://doi.org/10.18565/aig.2021.10.179-186>.
2. Белокриницкая Т.Е., Артымук Н.В., Филиппов О.С. с соавт. Материнская смертность и near miss при новой коронавирусной инфекции (COVID-19) у беременных Сибири и Дальнего Востока. *Проблемы репродукции* 2021;27(5):114–120. <https://doi.org/10.17116/repro202127051114>.
Belokrinitskaya TE, Artymuk NV, Filippov OS et al. Maternal mortality and near miss in new coronavirus infection (COVID-19) in pregnant women of Siberia and the Far East. *Reproduction problems* 2021;27(5):114–120. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro202127051114>.
3. Голота А.С., Камилова Т.А., Макаренко С.В. с соавт. Реабилитация в условиях пандемии COVID-19. *Клиническая практика* 2022;13(1):42–65. <https://doi.org/10.17816/clinpract79364>.
Golota AS, Kamilova TA, Makarenko SV et al. Rehabilitation in the conditions of the COVID-19 pandemic. *Clinical practice* 2022;13(1):42–65. <https://doi.org/10.17816/clinpract79364>.
4. Морозов С.П., Гомболевский В.А., Чернина В.Ю. с соавт. Прогнозирование летальных исходов при COVID-19 по данным компьютерной томографии органов грудной клетки. *Туберкулез и болезни легких* 2020;98(6):7–14. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-6-7-14>.
Morozov SP, Gombolevskiy VA, Chernina VYu et al. Prediction of lethal outcomes in COVID-19 cases based on the results chest computed tomography. *Tuberculosis and Lung Diseases* 2020;98(6):7–14. (In Russ.). <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2020-98-6-7-14>.
5. Морозов С.П., Проценко Д.Н., Сметанина С.В. с соавт. Лучевая диагностика коронавирусной болезни (COVID-19): организация, методология, интерпретация результатов: препринт N ЦДТ-2020 (Версия 2 от 17.04.2020. Москва; 2020. С. 7–27, Серия «Лучшие практики лучевой и инструментальной диагностики». Выпуск 65).
Morozov SP, Protsenko DN, Smetanina SV et al. Radial diagnosis of coronavirus disease (COVID-19): organization, methodology, and interpretation of results: preprint N CDT-2020 (Version 2 dated April 17, 2020. Moscow; 2020. pp. 7–27, Best Practices in Radiation and Instrumental Diagnostics. Issue 65) (In Russ.).
6. Синицын В.Е., Тюрин И.Е., Митьков В.В. Временные согласительные методические рекомендации Российского общества рентгенологов и радиологов (РОРР) и Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине (РАСУДМ) «Методы лучевой диагностики пневмонии при новой коронавирусной инфекции COVID-19» (версия 2). *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2020;101(2):72–89. <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-2-72-89>.
Sinitsyn VE, Tyurin IE, Mitkov VV. Consensus Guidelines of Russian Society of Radiology (RSR) and Russian Association of Specialists in Ultrasound Diagnostics in Medicine (RASUDM) «Role of Imaging (X-ray, CT and US) in Diagnosis of COVID-19 Pneumonia» (version 2). *Journal of radiology and nuclear medicine* 2020;101(2):72–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-2-72-89>.
7. Франк Г.А., Ковальский Г.Б., Зайратьянц О.В. с соавт. Правила проведения патолого-анатомических исследований плаценты. Класс XV и XVI МКБ-10. Клинические рекомендации Российского общества патологоанатомов. Москва; 2017. С. 5–43.
Frank GA, Kovalsky GB, Zairatjants OV et al. Rules of pathological-anatomical research of placenta. Class XV and XVI of the ICD-10. Clinical guidelines of the Russian Society of Pathologists. Moscow; 2017. pp. 5–43. (In Russ.).
URL: http://www.old.patolog.ru/2017/placenta_study.pdf
8. Allen DC, Cameron RI (ed.) *Histopathology Specimens. Clinical, pathological and laboratory aspects*. Springer. 2004. pp. 7–49.
9. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD (ed.) *Bancroft's theory and practice of histological techniques*. Elsevier. 2019;8th ed. pp. 126–139.
10. Redline RW. Classification of placental lesions. *Amer J Obstet Gynecol* 2015;213(4 suppl.):S21–S28. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.05.056>.
11. Redline RW, Boyd ThK, Roberts DJ. *Placental and Gestational Pathology*. Cambridge University Press. 2018. pp. 14–156.
12. Малышкина А.И., Назарова А.О., Кулида Л.В. с соавт. Патоморфологические особенности плацент у женщин с преждевременными родами в зависимости от срока гестации. *Акушерство, гинекология и репродукция* 2017;11(4):23–29. <https://doi.org/10.17749/2313-7347.2017.11.4.023-029>.
Malyshkina AI, Nazarova AO, Kulida LV et al. Pathomorphology of placenta in women with preterm births at different age of gestation. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction* 2017;11(4):23–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347.2017.11.4.023-029>.

7347.2017.11.4.023-029.

13. Щёголев А.И., Серов В.Н. Клиническая значимость поражений плаценты. *Акушерство и гинекология* 2019;3:54–62. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.3.54-62>.

Shchegolev AI, Serov VN. Clinical significance of placental lesions. *Obstetrics and gynecology*. 2019;3:54–62. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.3.54-62>.

14. Ланг Т.А., Сессик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов: пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. М.: Практическая медицина; 2011. С. 64–79.

Lang TA, Sessik M. How to describe statistics in medicine. An annotated guide for authors, editors and reviewers: translated from English under the editorship of V.P. Leonov. M.: Practical Medicine; 2011. pp. 64–79. (In Russ.)

15. Juan J, Gil MM, Rong Z et al. Effect of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on maternal, perinatal and neonatal outcome: systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2020;56(1):15–27. <https://dx.doi.org/10.1002/uog.22088>.

16. Косолапова Ю.А., Морозов Л.А., Инвиева Е.В. с соавт. Влияние COVID-19 на исходы беременности и состояние новорожденных (обзор литературы). *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение* 2021;9(4):6–70. <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2021-9-4-63-70>.

Kosolapova UA, Morozov LA, Inviyeva EV et al. Effect of COVID-19 on the outcome of pregnancy and the condition of newborns (review of the literature). *Obstetrics and Gynecology: news, opinions, training* 2021;9(4):63–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2021-9-4-63-70>.

17. Kovacevic P, Topolovac S, Dragic S et al. Characteristics and Outcomes of Critically Ill Pregnant/Postpartum Women with COVID-19 Pneumonia in Western Balkans, The Republic of Srpska Report. *Medicina (Kaunas)* 2022;58(12):1730. <https://doi.org/10.3390/medicina58121730>.

18. Белокриницкая Т.Е., Шаповалов К.Г. Грипп и беременность. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015. С. 7–21.

Belokrinitskaya TE, Shapovalov KG. Flu and pregnancy. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. pp. 7–21. (In Russ.).

19. Dashraath P, Wong LJ, Lim MXK et al. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic and Pregnancy. *Amer J Obstet Gynecol* 2020;222(6):52–531. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.03.021>.

20. Allotey J, Stallings E, Bonet M et al. Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2020;370:m3320. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3320>.

21. Jafari M, Pormohammad A, Sheikh Neshin SA et al. Clinical characteristics and outcomes of pregnant women with COVID-19 and comparison with control patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol* 2021;e2208. <https://doi.org/10.1002/rmv.2208>.

22. Wang SS, Zhou X, Lin XG et al. Experience of clinical management for pregnant women and newborns with novel coronavirus pneumonia in Tongji Hospital, China. *Curr Med Sci* 2020;40(2):285–289. <https://doi.org/10.1007/s11596-020-2174-4>.

23. Смирнов А.В., Поплавский А.Э., Чернышев Н.В. с соавт. К вопросу о возможности проникновения SARS-CoV-2 через гематоплацентарный барьер (клинико-патологоанатомическое исследование). *Волгоградский научно-медицинский журнал* 2021;1:52–57.

Smirnov AV, Poplavsky AE, Chernyshev NV et al. On the possibility of SARS-CoV-2 penetration through the blood-brain barrier (clinical and pathological study). *Volgograd Scientific Medical Journal* 2021;1:52–57. (In Russ.).

24. Белокриницкая Т.Е., Артымук Н.В., Филиппов О.С., Фролова Н.И. Клиническое течение, материнские и перинатальные исходы новой коронавирусной инфекции COVID-19 у беременных Сибири и Дальнего Востока. *Акушерство и гинекология* 2021;2:48–54. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.2.48-54>.

Belokrinitskaya TE, Artymuk NV, Filippov OS, Frolova NI. Clinical course, maternal and perinatal outcomes of new coronavirus infection COVID-19 in pregnant women of Siberia and the Far East. *Obstetrics and Gynecology* 2021;2:48–54. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.2.48-54>.

25. Villar J, Ariff S, Gunier RB et al. Maternal and neonatal morbidity and mortality among pregnant women with and without COVID-19 infection: the INTERCOVID multinational cohort study. *JAMA Pediatr* 2021;175(8):817–826. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2021.1050>.

26. Variant M, Claire A, O'Reilly D et al. The effect of COVID-19 infection during pregnancy. evaluating neonatal outcomes and the impact of the B.1.1.7. *Pediatr Infect Dis J* 2021;40(12):475–481. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000003352>.

27. WAPM (World Association of Perinatal Medicine) Working Group on COVID-19 Maternal and perinatal outcomes of pregnant women with SARS-CoV-2 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021;57(2):232–241. <https://doi.org/10.1002/uog.23107>.

28. Мальгина Г.Б., Гришкина А.А., Дьякова М.М. с соавт. Тромбоз сосудов плаценты как причина антенатальной гибели плода у беременных с новой коронавирусной инфекцией. *Акушерство и гинекология* 2022;5:162–170. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.5.162-170>.

Malgina GB, Grishkina AA, Diakova MM et al. Placental vascular thrombosis as a cause of antenatal fetal death in pregnant women with new coronavirus infection. *Obstetrics and Gynecology* 2022;5:162–170. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.5.162-170>.

29. Барина И.В. Патогенез антенатальной смерти: фенотипы плодовых потерь и танатогенез. *Российский вестник акушера-гинеколога* 2015;15(1): 68–78. <https://doi.org/10.17116/rosakush201515168-76>.

Barinova IV. Pathogenesis of antenatal death: phenotypes of fetal losses and tanatogenesis. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist* 2015;15(1):68–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/rosakush201515168-76>.

30. Туманова У.Н., Щёголев А.И. Поражения плаценты в генезе мертворождения (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2017;3–1:77–81. <https://doi.org/10.17513/mjpf.11403>.

- Tumanova UN, Shchegolev AI. Placental lesions in the genesis of stillbirth (review of the literature). *International Journal of Applied and Fundamental Research* 2017;3–1:77–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/mjpf.11403>.
31. Плотоненко З.А., Сенькевич О.А., Владимиров Н.Ю., Кожарская О.В. Перинатальные и неонатальные исходы новой коронавирусной инфекции в Хабаровском крае. *Неонатология: новости, мнения, обучение* 2022;10(2):7–13. <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2022-10-2-7-13>.
- Plotonenko ZA, Senkevich OA, Vladimirova NY, Kozharskaya OV. Perinatal and neonatal outcomes of a new coronavirus infection in Khabarovsk Krai. *Neonatology: news, opinions, training* 2022;10(2):7–13. (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2022-10-2-7-13>.
32. Жуковская С.В., Можейко Л.Ф. Патология плаценты при COVID-19. Международные обзоры: клиническая практика и здоровье 2021;1:16–25.
- Zhukovskaya SV, Mozheiko LF. Placental pathology in COVID-19. *International reviews: clinical practice and health* 2021;1:16–25. (In Russ.).
- URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/patologiya-platsenty-pri-covid-19>.
33. Агафонова В.А., Васильев В.В., Рогозина Н.В. Морфологическая характеристика плаценты при инфекционном поражении. *Практическая медицина* 2021;19(1):8–14. <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2021-1-8-14>.
- Agafonova VA, Vasilyev VV, Rogozina NV. Morphological characterization of the placenta in infectious lesions. *Practical Medicine* 2021;19(1):8–14. (In Russ.). <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2021-1-8-14>.
34. Беженарь В.Ф., Романова М.Л., Нестеров И.М., Добровольская И.А. Анализ течения и исходов беременности у женщин с различной степенью тяжести новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Санкт-Петербурге: уроки пандемии. *Акушерство, Гинекология и Репродукция* 2022;16(4):365–380. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.314>.
35. Bezhenar' VF, Romanova ML, Nesterov IM, Dobrovolskaya IA. Analysis of the course and outcomes of pregnancy in women with varying degrees of severity of the new coronavirus infection COVID-19 in St. Petersburg: pandemic. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction* 2022;16(4):365–380. (In Russ.). <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.314>.
36. Чхаидзе И.З., Лиознов Д.А., Петрищев Н.Н., Ниаури Д.А. Системный эндотелиит при новой коронавирусной инфекции COVID-19: гендерные и перинатальные риски. *Региональное кровообращение и микроциркуляция* 2021;20(4):4–13. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2021-20-4-4-13>.
- Chkhaidze IZ, Lioznov DA, Petrishchev NN, Niauri DA. Systemic endotheliitis in new coronavirus infection COVID-19: gender and perinatal risks. *Regional circulation and microcirculation* 2021;20(4):4–13. (In Russ.) <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2021-20-4-4-13>.
37. Гареева А.И., Мозговая Е.В., Белопольская М.А. с соавт. Опыт ведения беременных с тяжелой и крайне тяжелой формами COVID-19. *Журнал акушерства и женских болезней* 2022;71(1):11–22. <https://doi.org/10.17816/JOWD72169>.
- Gareeva AI, Mozgovaya EV, Belopolskaya MA et al. Experience in managing pregnant women with severe and extremely severe forms of COVID-19. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2022;71(1):11–22. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/JOWD72169>.
38. Свиридова А.В., Константинова О.Д. Патоморфологические особенности плацент при коронавирусной инфекции. *Вестник Ивановской медицинской академии* 2021;26(1):44–47. https://doi.org/10.52246/1606-8157_2021_26_1_44.
- Sviridova AV, Konstantinova OD. Pathomorphological features of the placenta in coronavirus infection. *Bulletin of the Ivanovo Medical Academy* 2021;26(1):44–47. (In Russ.). https://doi.org/10.52246/1606-8157_2021_26_1_44.

Сведения об авторах:

Екатерина Евгеньевна Воропаева – доктор медицинских наук, доцент;
 Юлия Владимировна Хайдукова – аспирант;
 Элла Алексеевна Казачкова – доктор медицинских наук, профессор;
 Евгений Леонидович Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
 Татьяна Николаевна Шамаева – кандидат педагогических наук, доцент;
 Алина Авзаловна Алиева – аспирант;
 Людмила Станиславовна Ищенко – кандидат медицинских наук, доцент;
 Анна Юрьевна Холопова – аспирант;
 Глеб Вячеславович Сычуг – кандидат медицинских наук, доцент.

Information about the authors:

Ekaterina E. Voropaeva – Doctor of Science (Medicine), Associate Professor;
 Yulia V. Haidukova – Post-graduate student;
 Ella A. Kazachkova – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Evgeny L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Tatiana N. Shamaeva – Ph.D. in pedagogics, Associate professor;
 Alina A. Alieva – Postgraduate student;
 Ludmila S. Ischenko – Ph.D. in medicine, Associate professor;
 Anna YU. Kholopova – Postgraduate student;
 Gleb V. Sychugov – Ph.D. in medicine, Associate professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Этическая экспертиза. Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Южно-Ураль-

ский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 5 от 20.09.2021 г).

Ethical review The study was approved by the Ethical Committee of the South Ural State Medical University (No. 5 of September 20, 2021).

Информированное согласие было подписано всеми пациентами.

Informed consent was signed by all patients Конфликт интересов.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Статья поступила в редакцию 28.02.2023; одобрена после рецензирования 20.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 28.02.2023; approved after reviewing 20.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

Уральский медицинский журнал. 2023. Т. 22, №2. С. 122-134.
Ural Medical Journal. 2023; Vol. 22, no 2. P. 122-134.

Научная статья
УДК 618.333(470.55)
doi:10.52420/2071-5943-2023-22-2-122-134

АНАЛИЗ ПРИЧИН АНТЕНАТАЛЬНОЙ СМЕРТИ ДОНОШЕННОГО ПЛОДА В ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Анна Валерьевна Чижовская¹, Элла Алексеевна Казачкова²,
Евгений Леонидович Казачков³, Юрий Алексеевич Семёнов⁴

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

¹ ms.chizhovskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1574-1613>

² kazachkovaea@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>

³ doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

⁴ u-sirius@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3268-7981>

Аннотация

Введение. В Российской Федерации уровень мертворождаемости имеет стойкую тенденцию к росту, составляя около 80% от перинатальной смертности. При этом в настоящее время отсутствует единая международная классификация для кодирования причин случаев перинатальной смерти. **Цель работы** – определение причин антенатальной смерти доношенных плодов в Челябинской области на основе различных классификационных систем для выявления резервов снижения уровня мертворождаемости. **Материалы и методы.** Проведено ретроспективное исследование по типу случай-контроль на основе анализа медицинской документации всех случаев антенатальной смерти плода на сроке беременности 37 недель 0 дней – 41 неделя 6 дней, прошедших на территории Челябинской области с 2019 по 2021 годы. Статистический анализ проводили с помощью пакета статистических программ MedCalc (Version 20.110, Бельгия, 2022). **Результаты.** На основании классификации МКБ-10, примененной к случаям смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС), ведущей причиной антенатальной смерти доношенных плодов является острое антенатальное осложнение. При этом расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода, являются основной сопутствующей патологией. Также отмечено увеличение доли состояний матери, оказывающих прямое влияние на возникновение антенатальной смерти плода (патология плаценты и пуповины), и других заболеваний или патологических состояний матери (гипертензивные расстройства и инфекционные и паразитарные болезни). Согласно Скандинавско-Балтийской классификации, большинство случаев относятся к категории III и считаются предотвратимыми. Распределение причин смерти доношенных плодов по системе CODAC показало, что антенатальная гипоксия плода редко является основной и единственной причиной. На первое место выходит патология плаценты и пуповины. **Обсуждение.** Классификация МКБ-ПС позволяет провести наиболее подробный анализ причин антенатальной смерти, рассматривая патологические состояния как плода, так и матери, непосредственно повлиявшие на возникновение неблагоприятного исхода. При этом сравнение распределения изучаемых случаев по другим классификациям показало, что патология плаценты и пуповины может рассматриваться как основная причина антенатальной смерти доношенных плодов, а не сопутствующая. **Заключение.** Основной причиной антенатальной смерти доношенных плодов на территории Челябинской области является внутриутробная гипоксия, что определяет необходимость выявления предикторов данного осложнения и сроков родоразрешения для снижения уровня мертворождаемости на доношенном сроке беременности.

Ключевые слова: классификация причин антенатальной смерти, антенатальная смерть доношенного плода, мертворождаемость.

Для цитирования: Чижовская А.В., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Семенов Ю.А. Анализ причин антенатальной смерти доношенного плода в Челябинской области. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):122-134. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-122-134>.

© Чижовская А.В., Казачкова Э.А., Казачков Е.Л., Семенов Ю.А., 2023
© Chizhovskaya A.V., Kazachkova E.A., Kazachkov E.L., Semenov Yu.A., 2023

ANALYSIS OF THE CAUSES OF ANTENATAL DEATH OF PREMATURE FETUSES IN THE CHELYABINSK REGION

Anna V. Chizhovskaya¹, Ella A. Kazachkova², Evgeniy L. Kazachkov³, Yuri A. Semenov⁴

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

¹ms.chizhovskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1574-1613>²kazachkova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1672-7058>³doctorkel@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>⁴u-sirius@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3268-7981>**Abstract**

Introduction. The stillbirth rate is steadily increasing accounting for about 80 per cent of perinatal mortality in Russia. There is currently no uniform international classification for coding the causes of perinatal death. **The aim** of the study was a comparative analysis of the causes of antenatal death of full-term fetuses in the Chelyabinsk region on the basis of various classifications of perinatal mortality to determine possible reserves for reducing the stillbirth rate. **Materials and methods** A retrospective case-control study based on the analysis of medical documentation of all cases of antenatal death of full-term fetuses during the period of pregnancy 37 weeks 0 days - 41 weeks 6 days held in the Chelyabinsk region from 2019 to 2021. We use the MedCalc software package (Version 20.110, Belgium, 2022) for statistical analysis. **Results** Based on the ICD-10 classification applied to perinatal deaths (ICD-PM), the leading cause of antenatal death of full-term fetuses is acute antenatal complication. In this case, disorders related to duration of pregnancy and growth of the fetus are the main concomitant pathology. There has also been an increase in the proportion of maternal conditions that have a direct impact on antenatal fetal death (placental and umbilical cord pathology) and other diseases or pathological conditions of the mother (hypertensive disorders and infectious and parasitic diseases). According to the Scandinavian-Baltic Classification, most cases fall into category III and are considered preventable. The distribution of full-term fetal death by CODAC showed that antenatal hypoxia of the fetus is rarely the primary and only cause. First comes the pathology of the placenta and umbilical cord. **Discussion** The ICD-PM classification allows to lead the most detailed analysis of the causes of antenatal death, considering the pathological conditions of the fetus and the mother, which have a direct influence on the occurrence of the adverse outcome. However, a comparison of the distribution of the cases studied by other classifications showed that the pathology of the placenta and umbilical cord could be considered as the main cause of antenatal death of full-term fetuses, rather than a concomitant cause. **Conclusion** The main cause of antenatal death of full-term fetuses in Chelyabinsk region is antenatal hypoxia of the fetus. At the same time, all cases of antenatal fetal death relate to preventable losses, which determines the urgent need to identify predictors of this unfavorable outcome in order to reduce the stillbirth rate.

Key words: classification of causes of antenatal death, antenatal death of full-term foetus, stillbirth rate.

For citation:

Chizhovskaya AV, Kazachkova EA, Kazachkov EL, Semenov YuA. Analysis of the causes of antenatal death of premature fetuses in the Chelyabinsk region. Ural medical journal 2023;22(2):122-134. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-122-134>

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Аудита и анализа случаев мертворождения и неонатальной смерти ВОЗ ежегодно в мире регистрируется 2,7 млн. случаев неонатальной смерти и 2,6 млн. случаев мертворождения. В Российской Федерации на фоне глубокого демографического кризиса (к 2027 году коэффициент рождаемости уменьшится до 1,12 детей на одну женщину) одной из основных задач, обозначенных в Указе Президента Российской Федерации о стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года, является снижение младенческой смертности до 4,5 случая на тысячу детей, родившихся живыми, и улучшение

качества оказания медицинской помощи матерям и детям. При этом перинатальная смертность, непосредственно обуславливающая уровень младенческой смертности, рассматривается как индикаторный показатель качества и доступности медицинской помощи матерям и новорожденным, уровня здравоохранения и социально-экономического развития страны [1–3].

По данным официального издания «Здравоохранение в России» Росстата, показатель мертворождаемости на территории Российской Федерации имеет стойкую тенденцию к росту и вносит существенный вклад в общий уровень перинатальной смертности (до 80%). Так, в 2005 г. он составлял

5,4‰, в 2015 г. – 5,87‰, с небольшим снижением до 5,51‰ в 2018 г. и дальнейшим ростом 5,67‰ в 2020 г. При этом в настоящее время отсутствует единая стандартизированная международная классификация для кодирования причин случаев перинатальной смерти, что затрудняет проведение анализа данных случаев и определения возможных резервов снижения уровня мертворождаемости [4]. Важно отметить, что по данным статистических форм А-05 Росстата доля случаев с неустановленной причиной перинатальной смерти растет: в 2019г. – 3,1%, в 2020г. – 4,7% [5].

На данный момент в мире насчитывается более 80 различных классификаций причин перинатальной смертности [1, 6–8]. Наиболее широко используемые из них: разработанная ВОЗ МКБ-10 с применением к случаям смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС), Скандинавско-Балтийская классификация перинатальной смертности и классификация для национального мониторинга перинатальной смертности (система CODAC, UK), каждая из которых имеет свои преимущества. Так, в МКБ-ПС выделена рубрика, специфичная для антенатального периода, интранатального периода и неонатального периода. При этом дополнительно оценивается состояние матери в момент наступления перинатальной смерти. Согласно Приложению А (Рубрики МКБ-ПС и коды МКБ-10 для случаев смерти в антенатальном периоде), все причины антенатальной смерти плода разделены на 6 основных групп: I – врожденные аномалии, деформации и хромосомные нарушения; II – инфекционные заболевания; III – острое антенатальное осложнение; IV – другие нарушения, возникающие в антенатальном периоде; V – расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода; VI – смерть плода в антенатальном периоде по неуточненной причине [2]. В дополнение в соответствии с Приложением D (Рубрики МКБ-ПС и коды МКБ-10 для материнских состояний, оказавших влияние на перинатальную смертность) выделены следующие группы опосредованных причин: 1 – осложнения со стороны плаценты, пуповины и плодных оболочек; 2 – осложнения беременности у матери; 3 – медицинские и хирургические осложнения; 4 – без осложнений со стороны матери.

Применение Скандинавско-Балтийской классификации при анализе всех случаев перинатальной смерти вполне оправдано в связи с возможностью оценки их предотвратимости и определения резерва снижения уровня перинатальной смертности. Более того, данная классификация содержит оценку гестационного возраста, состояния новорожденного по шкале Апгар на 5-й минуте и включает в себя 13 категорий.

Система CODAC (Causes of Death and Associated Conditions), разработанная в Великобритании, содержит 10 категорий и 577 подкатегорий в полной версии, что позволяет определить основную при-

чину смерти и все возможные сопутствующие состояния, как плода, так и матери [6].

Согласно данным официальной статистики, уровень мертворождаемости в Челябинской области также не имеет тенденции к снижению: в 2017 г. данный показатель составил 5,9‰, в 2019 г. – 6,2‰, 2020 г. – 6,8‰, а в 2021 г. – 7,1‰, причём среди умерших от 25 до 30% приходится на доношенных мертворожденных. В связи с этим целесообразно провести анализ причин случаев антенатальной смерти доношенных плодов для определения возможных резервов снижения данного показателя.

Цель исследования – определение причин антенатальной смерти доношенных плодов в Челябинской области на основе различных классификационных систем для выявления резервов снижения уровня мертворождаемости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ медицинской документации (протокол патологоанатомического вскрытия плода, мертворожденного или новорожденного – форма 013/у) всех случаев антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности, прошедших на территории Челябинской области с 2019 по 2021 годы, по данным статистической формы № 32 Росстата.

Критерии включения: наличие медицинской документации (протокол патологоанатомического вскрытия плода, мертворожденного или новорожденного – форма 013/у), антенатальная смерть плода на сроке беременности 37 недель 0 дней – 41 неделя 6 дней, письменное информированное согласие пациенток на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати, наличие и доступность медицинской документации.

Критерии невключения: отсутствие согласия пациенток на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати, недоступность медицинской документации, срок беременности менее 37 недель, а также 42 недели и более.

Статистический анализ проводили с помощью пакета статистических программ MedCalc (Version 20.110, Belgium). Количественные данные представлены в виде абсолютных величин (n), качественные данные описаны абсолютными и относительными долями. Применяли критерии χ^2 (хи-квадрат) Пирсона и Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно форме № 32 Росстата в 2019 г. антенатальная смерть плода на доношенном сроке беременности зафиксирована в 45 случаях, что составило 24,3% от числа всех случаев антенатальной смерти плода, в 2020 г. – в 55 (26,9%) случаях, а в 2021 г. – в 58 (30,5%) случаях. При этом большинство пациенток (75,9%) за весь рассматриваемый период являлись жительницами крупных городов

Челябинской области: в 2019 г. – 75,5%, в 2020 г. – 78,1%, а в 2021 г. – 74,1%. Интересно, что пол у преобладающего числа (65,1%) доношенных плодов, умерших антенатально, был женским: в 2019 г. – 60,0%, в 2020 г. – 61,8% и в 2021 г. – 70,6%.

Основываясь на патологоанатомическом заключении, мы сгруппировали и классифицировали причины антенатальной смерти плодов на доношенном сроке беременности. С учётом отсутствия единой международной классификации внутриутробной смерти плода, нами были использованы 3 наиболее широко используемые классификации для мониторинга перинатальной смертности: МКБ-10 (ВОЗ) в случаях смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС), Скандинавско-Балтийская классификация перинатальной смертности и система CODAC (UK).

Согласно рекомендациям ВОЗ по использованию международной классификации болезней (МКБ-10) для случаев смерти в перинатальном периоде (МКБ-ПС) данную классификацию можно применить не только в отношении времени наступления перинатальной смерти, а именно антенатального периода (табл. 1), но и провести сопоставления между основным заболеванием и патологическим состоянием матери, оказавшим неблагоприятное влияние на плод, умерший в антенатальном периоде (табл. 3).

Таблица 1.

Распределение причин антенатальной смерти доношенных плодов по основным кодам согласно МКБ-ПС в сравнительном аспекте за 2019–2021 годы

	Рубрика А (антенатальная смерть)	Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
A1	Q00-Q99 Врожденные аномалии [пороки развития], деформации и хромосомные нарушения	5	11,2	0	0,0	0	0,0	0,016	0,019	-
	Q00. Анэнцефалия и подобные пороки развития	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q04. Другие врожденные аномалии [пороки развития] мозга	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q34. Другие врожденные аномалии [пороки развития] органов дыхания	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q45. Другие врожденные аномалии [пороки развития] органов пищеварения	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q77. Остеохондродисплазия с дефектами роста трубчатых костей и позвоночника	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q87. Другие уточненные синдромы врожденных аномалий [пороков развития], затрагивающие несколько систем	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q89. Другие врожденные аномалии [пороки развития], не классифицированные в других рубриках	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q90. Синдром Дауна	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
A2	P35, P37, P39, A50 Инфекционные болезни	0	0,0	1	1,8	3	5,2	>0,999	0,254	0,618
	P39.9. Инфекция, специфичная для перинатального периода, неуточненная	0	0,0	1	1,8	3	5,2	>0,999	0,254	0,618
A3	P20. Острое антенатальное осложнение	36	80,0	48	87,4	53	91,4	0,326	0,096	0,497
	P20. Внутриутробная гипоксия плода	36	80,0	48	87,4	53	91,4	0,326	0,096	0,497
A4	P50, P52, P55, P56, P60, P61, P70, P75, P77, P83. Другие нарушения, возникающие в антенатальном периоде	1	2,2	2	3,6	0	0,0	>0,999	0,436	0,234
	P55.0 Резус-изоиммунизация плода и новорожденного	1	2,2	1	1,8	0	0,0	>0,999	0,436	0,486
	P56.0 Водянка плода, обусловленная изоиммунизацией	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	P83.2 Водянка плода, не связанная с гемолитической болезнью	0	0,0	1	1,8	0	0,0	>0,999	-	0,486
A5	P05, P08. Расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода	3	6,6	4	7,2	2	3,4	>0,999	0,651	0,430
	P05.1 Малый размер плода для гестационного возраста	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	P08.0 Чрезмерно крупный ребенок	2	4,4	2	3,6	1	1,7	>0,999	0,579	0,611
	P08.1 Другие «крупновесные» для срока дети	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

	Рубрика А (антенатальная смерть)	Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
	P08.2 Перенесенный ребенок, но не «крупновесный» для срока	1	2,2	2	3,6	1	1,7	>0,999	>0,999	0,611
A6	P95. Смерть плода в антенатальном периоде по неуточненной причине	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

В течение рассматриваемых трех лет основной причиной антенатальной смерти доношенных плодов является острое антенатальное осложнение, а именно внутриутробная гипоксия плода, которая составляет 80,0%, 87,4% и 91,4% соответственно сравниваемым годам (табл. 1). Далее структура основных причин антенатальной смерти доношенных плодов отличается в зависимости от года. Так, в 2019 г. второе место занимают врожденные аномалии, деформации и хромосомные нарушения (11,2%), а на третьем месте находятся расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода (6,6%). В 2020 г. на второе место выходят расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода (7,2%), а на третьем – другие нарушения, возникающие в антенатальном

периоде (3,6%). В 2021 г. на втором месте располагается инфекция, специфичная для перинатального периода (5,2%), а на третьем – расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода (3,4%). При этом статистически значимым является снижение случаев антенатальной смерти по причине врожденных аномалий, деформаций и хромосомных нарушений в 2020 г. и 2021 г. по сравнению с 2019г. ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{1-3} = 0,019$).

Помимо основных заболеваний или патологических состояний плода, были зарегистрированы и другие заболевания или патологические состояния плода, сопутствовавшие основной патологии и опосредованно повлиявшие на возникновение антенатальной смерти на доношенном сроке беременности (табл. 2).

Таблица 2.

Распределение других заболеваний или патологических состояний плода, сопутствовавших основной патологии, по основным кодам согласно МКБ-ПС в сравнительном аспекте за 2019-2021 годы

Рубрика А (антенатальная смерть)		Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
A1	Q00-Q99. Врожденные аномалии [пороки развития], деформации и хромосомные нарушения	2	4,4	0	0,0	2	3,4	0,200	>0,999	0,495
	Q00. Анэнцефалия и подобные пороки развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q04. Другие врожденные аномалии [пороки развития] мозга	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q34. Другие врожденные аномалии [пороки развития] органов дыхания	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q45. Другие врожденные аномалии [пороки развития] органов пищеварения	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q77. Остеохондродисплазия с дефектами роста трубчатых костей и позвоночника	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	Q87. Другие уточненные синдромы врожденных аномалий [пороков развития], затрагивающие несколько систем	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	Q89. Другие врожденные аномалии [пороки развития], не классифицированные в других рубриках	0	0,0	0	0,0	2	3,4	-	0,503	0,495
	Q90. Синдром Дауна	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
A2	P35, P37, P39, A50. Инфекционные болезни	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

Рубрика А (антенатальная смерть)		Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
	P39.9. Инфекция, специфичная для перинатального периода, неуточненная	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
A3	P20. Острое антенатальное осложнение	6	13,3	6	10,9	5	8,6	0,711	0,447	0,683
	P20. Внутриутробная гипоксия плода	6	13,3	6	10,9	5	8,6	0,711	0,447	0,683
A4	P50, P52, P55, P56, P60, P61, P70, P75, P77, P83. Другие нарушения, возникающие в антенатальном периоде	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	P55.0 Резус-изоиммунизация плода и новорожденного	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	P56.0 Водянка плода, обусловленная изоиммунизацией	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
	P83.2 Водянка плода, не связанная с гемолитической болезнью	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
A5	P05, P08. Расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода	6	13,3	3	5,4	5	8,6	0,173	0,444	0,714
	P05.1 Малый размер плода для гестационного возраста	5	11,1	2	3,6	3	5,2	0,283	0,292	>0,999
	P08.0 Чрезмерно крупный ребенок	0	0,0	1	1,8	0	0,0	>0,999	-	0,486
	P08.1 Другие «крупновесные» для срока дети	1	2,2	0	0,0	2	3,4	0,450	>0,999	0,495
	P08.2 Переносенный ребенок, но не «крупновесный» для срока	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
A6	P95. Смерть плода в антенатальном периоде по неуточненной причине	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

Статистически значимой разницы в структуре других заболеваний и патологических состояний плода, сопутствующих основной патологии в течение трех анализируемых лет не выявлено (табл. 2). Так, в большинстве случаев внутриутробная гипоксия плода и расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода, явились основными патологическими состояниями

ми плода, составляя 13,3%, 10,9% и 8,6%; 13,3%, 5,4% и 8,6% соответственно. При этом малый размер плода для гестационного возраста в 2019 г. составил 11,1%, в 2020 г. – 3,6% и 2021 г. – 5,2%. Важно отметить, что внутриутробная гипоксия плода как основное заболевание без выявленной сопутствующей патологии, встречалась в 11% случаев.

Таблица 3.

Распределение основных заболеваний или патологических состояний матери, оказавших неблагоприятное влияние на плод по рубрикам согласно МКБ-ПС в сравнительном аспекте за 2019–2021 годы

Рубрики материнских состояний		Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
M1	Осложнения со стороны плаценты, пуповины и плодных оболочек	32	71,1	48	87,2	53	91,3	0,045	0,007	0,480

Рубрики материнских состояний		Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
	P02.1 Поражения плода и новорожденного, обусловленные другими осложнениями, связанными с отделением плаценты и кровотечением	3	6,6	6	10,9	9	15,5	0,463	0,167	0,472
	P02.2 Поражения плода и новорожденного, обусловленные неуточненными и другими морфологическими и функциональными аномалиями плаценты	14	31,2	22	40,0	22	37,9	0,359	0,473	0,822
	P02.5 Поражения плода и новорожденного, обусловленные другими видами сдавления пуповины	9	20,0	12	21,8	15	25,8	0,825	0,487	0,927
	P02.6 Поражения плода и новорожденного, обусловленные другими или неуточненными состояниями пуповины	0	0,0	1	1,8	1	1,7	>0,999	>0,999	>0,999
	P02.7 Поражения плода и новорожденного, обусловленные хориоамнионитом	6	13,3	7	12,7	6	10,3	0,928	0,640	0,431

Зарегистрировано статистически значимое увеличение доли состояний матери, оказывающих прямое влияние на возникновение антенатальной смерти плода (табл. 3): в 2019 г. – 71,1%, в 2020 г. – 87,2% и в 2021 г. – 91,3% ($p_{1-2} = 0,045$; $p_{1-3} = 0,007$). При этом из них чаще всего встречается декомпенсированная плацентарная недостаточность (31,2%, 40,0% и 37,9%), шейное обвитие пуповиной и узел пуповины (20,0%, 21,8% и 25,8% соответственно годам). Кроме того, довольно большой процент осложнений

со стороны плаценты связан с хориоамнионитом (13,3%, 12,7% и 10,3%) и преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты и кровотечением (6,6%, 10,9% и 15,5% соответственно).

Помимо основных заболеваний и патологических состояний матери, от 36% до 53% случаев антенатальной смерти доношенного плода сопровождалась другими заболеваниями и патологическими состояниями матери, оказавших неблагоприятное влияние на плод (табл. 4).

Таблица 4.

Распределение других заболеваний или патологических состояний матери, оказавших неблагоприятное влияние на плод по рубрикам согласно МКБ-ПС в сравнительном аспекте за 2019-2021 годы

Рубрики материнских состояний		Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
M2	Осложнения беременности у матери	8	17,7	4	7,3	4	6,9	0,109	0,089	0,938
	P01.2 Поражения плода и новорожденного, обусловленные олигогидрамнионом	3	6,7	4	7,3	2	3,4	>0,999	0,651	0,430
	P01.3 Поражения плода и новорожденного, обусловленные полигидрамнионом	4	8,8	0	0,0	2	3,4	0,037	0,495	0,400
	P01.7 Поражения плода и новорожденного, обусловленные неправильным предлежанием плода перед родами	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
M4	Медицинские и хирургические осложнения	16	35,5	16	29,0	27	46,5	0,512	0,511	0,165
	P00.0 Поражения плода и новорожденного, обусловленные гипертензивными расстройствами у матери	8	17,8	10	18,3	13	22,4	0,958	0,564	0,578
	P00.2 Поражения плода и новорожденного, обусловленные инфекционными и паразитарными болезнями у матери	2	4,4	3	5,4	4	6,9	>0,999	>0,999	>0,999

Рубрики материнских состояний		Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
	P00.8 Поражения плода и новорожденного, обусловленные другими состояниями матери:	1	2,2	1	1,8	4	6,9	>0,999	0,383	0,364
	инфекцией половых путей и других локализаций у матери	1	2,2	1	1,8	1	1,7	>0,999	>0,999	>0,999
	коронавирусная инфекция	0	0,0	0	0,0	3	5,1	-	0,254	0,243
	P04.3 Поражения плода и новорожденного, обусловленные потреблением матерью табака	3	6,8	1	1,8	1	1,7	0,324	0,315	>0,999
	P04.4 Поражения плода и новорожденного, обусловленные употреблением матерью наркотических средств	1	2,2	0	0,0	0	0,0	0,450	0,436	-
	P04.8 Поражения плода и новорожденного, обусловленные другими вредными воздействиями на мать	0	0,0	0	0,0	1	1,7	-	>0,999	>0,999

Отмечается тенденция к росту доли других заболеваний или патологических состояний матери, оказавших неблагоприятное влияние на плод, в категории медицинских и хирургических осложнений: 35,5% в 2019 г. и 46,5% в 2021 г. (табл. 4). В большинстве случаев к таким состояниям матери относятся гипертензивные расстройства (17,8%, 18,3% и 22,4% соответственно годам) и инфекционные и паразитарные болезни (4,4%, 5,4% и 6,9%). При этом статистически значимой разницы не выявлено. Что касается поражений плода, обусловленных осложнениями беременности у матери, отмечается статистически значимая тенденция

к снижению доли подобных случаев в структуре патологии. Так, в 2019 г. количество случаев поражения плода, обусловленные полигидрамнионом, составило 8,8%, в 2020г. – не выявлены, а в 2021г. – 3,4% (p₁₋₂ = 0,037).

Скандинавско-Балтийская классификация перинатальной смертности также позволяет распределить случаи перинатальной смерти в зависимости от времени их возникновения, при этом оценивается срок гестации, на котором произошла смерть плода. Особенностью данной системы является возможность оценить предотвратимость изучаемого исхода беременности (табл. 5).

Таблица 5.

Распределение причин антенатальной смерти доношенных плодов по основным категориям согласно Скандинавско-Балтийской классификации в сравнительном аспекте за 2019-2021 годы

Категория		Название						P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
I	Смерть плода или новорожденного с врожденными пороками развития	5	11,2	0	0,0	0	0,0	0,016	0,019	-
II	Антенатальная смерть плода с задержкой роста, без врожденных пороков развития на сроке 28 недель и более	5	11,2	2	3,6	3	5,1	0,238	0,292	>0,999
III	Антенатальная смерть плода без задержки роста и без врожденных пороков развития на сроке 28 недель и более	35	77,7	52	94,6	53	91,3	0,013	0,053	0,513
IV	Антенатальная смерть плода на сроке менее 28 недель без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
V	Антенатальная смерть плода без врожденных пороков развития при многоплодной беременности	0	0,0	1	1,8	2	3,4	>0,999	0,503	>0,999
VI	Интранатальная смерть плода без врожденных пороков развития на сроке 28 недель и более	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
VII	Интранатальная смерть плода без врожденных пороков развития на сроке менее 28 недель	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
VIII	Смерть новорожденного. Роды в 28-33 недели беременности. Оценка по шкале Апгар более 6 баллов на 5-й минуте. Без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

Категория		Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
IX	Смерть новорожденного. Роды в 28-33 недели беременности. Оценка по шкале Апгар менее 7 баллов на 5-й минуте. Без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
X	Смерть новорожденного. Роды в сроке более 33 недель беременности. Оценка по шкале Апгар более 6 баллов на 5-й минуте. Без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
XI	Смерть новорожденного. Роды в сроке более 33 недель беременности. Оценка по шкале Апгар менее 7 баллов на 5-й минуте. Без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
XII	Смерть новорожденного. Роды в сроке менее 28 недель беременности. Без врожденных пороков развития	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
XIII	Неклассифицированные случаи	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

Гестационный возраст является одним из основных параметров Скандинавско-Балтийской классификации, при этом в антенатальном периоде пограничным сроком считается 28 недель. В связи с этим проанализировать структуру причин антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности затруднительно, так как большинство случаев распределяются в категорию III: 77,7% в 2019 г., 94,6% в 2020 г. и 91,3% в 2021 г. При этом, согласно данным представленным в таблице 5, очевидно статистически значимое снижение случаев смерти плода с врожденными пороками развития: в 2019 г. – 11,2%, в 2020 г. и в 2021 г. такие случаи не выявлены ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{1-3} = 0,019$). Особое внимание на себя обращает статистиче-

ски значимое увеличение случаев антенатальной смерти плода без задержки роста и без врожденных пороков развития на сроке 28 недель и более в 2020 г. по сравнению с 2019 г. ($p_{1-2} = 0,013$).

Важно отметить, что к предотвратимым потерям относятся категории II и III, в которые входит большинство случаев антенатальной смерти плодов на доношенном сроке беременности.

Система CODAC – широко используемая классификация для кодирования случаев перинатальной смерти, включающая 10 категорий, описывающих основные причины перинатальной смертности, и 94 подрубрики, содержащих причины и сопутствующие состояния мертворождения (табл. 6).

Таблица 6.

Распределение причин антенатальной смерти доношенных плодов по основным категориям согласно системе CODAC в сравнительном аспекте за 2019-2021 годы

Категории основных причин смерти		Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
0	Инфекционные причины смерти	6	13,3	8	14,5	9	15,5	0,862	0,756	0,885
1	Патологические состояния и заболевания, специфичные для неонатального периода	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
2	Причины, связанные с механизмом родов, осложнениями в родах и специфичные для интранатального периода	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
3	Врожденные пороки развития и хромосомные аномалии	5	11,2	0	0,0	0	0,0	0,016	0,019	-
4	Заболевания и патологические состояния плода	8	17,8	4	7,4	0	0,0	0,223	0,002	0,037
5	Патологические состояния пуповины	9	20,0	13	23,6	15	27,5	0,663	0,487	0,785
6	Патологические состояния плаценты и плодных оболочек	17	37,8	28	50,9	31	53,4	0,191	0,115	0,788
7	Материнские заболевания и патологические состояния	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-

Категории основных причин смерти		Название						p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
		2019 г. n = 45		2020 г. n = 55		2021 г. n = 58				
		абс.	%	абс.	%	абс.	%			
8	Неклассифицируемые причины смерти	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
9	Прерывание беременности (когда смерть не наступила ante- или интранатально)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	-	-	-
Категории, специфичные для сопутствующих состояний										
0	Ассоциированные состояния или осложнения перинатального периода	8	17,7	4	7,3	4	6,9	0,109	0,089	0,938
9	Ассоциированные материнские состояния и возможные риски	15	33,4	15	27,3	23	39,6	0,512	0,511	0,165

В системе CODAC также отмечено статистически значимое снижение удельного веса врожденных пороков развития и хромосомных аномалий в течение 3 лет ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{2-3} = 0,019$) (табл. 6). При этом в данной системе патологические состояния пуповины, плаценты и плодных оболочек рассматриваются в качестве основных причин антенатальной смерти плода, в связи с чем состояния, при которых антенатальная гипоксия плода является основной и единственной причиной, выявляется в малом проценте случаев: 17,8% в 2019 г. и 7,4% в 2020 г., в 2021 г. данная патология не выявлена ($p_{1-2} = 0,002$; $p_{2-3} = 0,037$). Возможно, использование 94 подрубик при кодировании причин случаев перинатальной смерти позволило бы провести более глубокий анализ, но имеющееся патологоанатомическое заключение не позволяет провести подобное распределение.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ динамики удельного веса причин антенатальной смерти доношенного плода на территории Челябинской области на основании классификации МКБ-ПС показал, что первое место занимает острое антенатальное осложнение, а именно внутриутробная гипоксия плода, составляя 91,4% в 2021 г. При этом с 2019 г. обращает на себя внимание рост доли данных осложнений на 11,3%, инфекционных заболеваний, специфичных для перинатального периода, – на 3,4%. В тоже время имеется статистически значимое снижение доли случаев, связанных с врожденными пороками развития и хромосомными аномалиями ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{1-3} = 0,019$). Также отмечена тенденция к уменьшению доли случаев, связанных с другими нарушениями, возникающими в антенатальном периоде (гемолитическая болезнь плода, водянка плода) и расстройствами, связанными с продолжительностью беременности и ростом плода (диабетическая фетопатия, переношенная беременность). При этом статистически значимой разницы доли данных причин в зависимости от года не выявлено. Важно отметить, что от 8,6% до 13,4% всех случаев антенатальной смерти доношенных плодов сопровождалась малым размером плода для

гестационного возраста. Изменение структуры причин антенатальной смерти доношенных плодов в течение трех лет, вероятнее всего, обусловлено совершенствованием службы антенатальной охраны плода, проводимой профилактикой гемолитической болезни плода во время беременности и централизацией ультразвуковых скринингов на территории Челябинской области, реализованной в 2020 году. Рост количества случаев внутриутробной гипоксии плода коррелирует со статистически значимым увеличением осложнений со стороны плаценты, пуповины и плодных оболочек на 20,2% ($p_{1-2} = 0,045$; $p_{1-3} = 0,007$), связанных с отделением плаценты и кровотечением, морфологическими и функциональными аномалиями плаценты (плацентарной недостаточностью) и сдавлением пуповины (истинных узлов пуповины и запутывания пуповины). И это подтверждается данными большинства исследований, представленных в литературе [8–15]. Так, в исследовании Ю.К. Гусак и соавт. [8] плацентарная недостаточность при антенатальной смерти плода как в острой, так и в хронической форме зафиксирована в 70,8% случаев, а в работе М.А. Курцера с соавт. [9] плацентарные нарушения в сочетании с задержкой роста плода встречаются в 73% случаев. На современном этапе развития перинатальной медицины данные клинические ситуации остаются малоуправляемыми и трудно диагностируемыми. Также обращает на себя внимание увеличение на 11% частоты соматической патологии матери (гипертензивные расстройства и инфекционные болезни, осложняющей течение беременности), напрямую влияющей на перинатальные исходы, хотя статистически значимого прироста не выявлено. Согласно литературным данным, большинство авторов отмечают, что любая экстрагенитальная патология увеличивает риск развития антенатальной смерти плода, при этом особое внимание обращая на гипертензивные расстройства, заболевания эндокринной системы, соединительной ткани, мочевыделительной системы и хронические специфические инфекции [16–19].

На уровне Российской Федерации ведущей причиной перинатальной смертности также является

внутриутробная гипоксия плода, составляя 92% от всех случаев, второй наиболее частой причиной – врожденные аномалии, деформации и хромосомные нарушения (5,4%), остальные 2,6% случаев занимают другие нарушения, включающие эндокринные и метаболические осложнения перинатального периода [5, 20]. К сожалению, при этом не учитывается срок гестации, на котором возникла смерть плода, в связи с чем определить структуру причин антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности не представляется возможным.

Интересно, что ни один из рассматриваемых нами случаев не отнесен в группу неизвестных причин смерти, хотя, согласно материалам ВОЗ [6], в среднем доля случаев мертворождения в развитых странах по необъяснимым причинам составляет 37,1%. В Российской Федерации доля случаев антенатальной смерти плода по неустановленной причине составляет около 3,9% в связи с тем, что в большинстве случаев при наличии только косвенных причин антенатальной смерти плода, основной причиной выставляется внутриутробная гипоксия плода [6].

В то же время, анализ распределения причин антенатальной смерти доношенных плодов согласно Скандинавско-Балтийской классификации, позволяет оценить дополнительные параметры: наличие или отсутствие задержки роста плода и возникновение смерти плода при многоплодной беременности. Так, с 2019 г. заметна тенденция к снижению случаев антенатальной смерти доношенных плодов, сопровождающихся задержкой роста плода, на 6%, что также может быть связано с более ранним выявлением данной патологии плода и своевременным родоразрешением. Также отмечается рост случаев антенатальной смерти доношенных плодов без врожденных пороков развития при многоплодной беременности на 3,4%, что, вероятно, связано с увеличением числа индуцированных беременностей. При этом статистически значимой разницы в зависимости от года не выявлено. Согласно распределению случаев антенатальной смерти доношенных плодов по Скандинавско-Балтийской классификации, также отмечено статистически значимое снижение смертей плодов с врожденными пороками развития ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{1-3} = 0,019$), относящихся к I категории, и увеличение доли случаев антенатальной смерти плода без задержки внутриутробного роста и без врожденных пороков развития на сроке 28 недель и более ($p_{1-2} = 0,013$), относящихся к III категории. К сожалению, данная классификация не позволяет проанализировать структуру причин смерти плодов, отнесенных к III категории, хотя именно в эту категорию отнесено 91,3% случаев антенатальной смерти плода на доношенном сроке беременности. Полученные данные подтверждаются исследованием, проведенным В.Л. Коваленко и соавт. [1], в

котором рассматривались случаи перинатальной смерти в г. Челябинск и г. Новосибирск. В обоих городах большинство случаев антенатальной смерти плода тоже были распределены в III категорию по Скандинавско-Балтийской классификации.

Распределение причин антенатальной смерти доношенных плодов по основным категориям классификации CODAC также показало статистически значимое уменьшение вклада врожденных пороков развития и хромосомных аномалий плода ($p_{1-2} = 0,016$; $p_{2-3} = 0,019$). При этом структура причин не меняется в течение рассматриваемого периода времени. На первом месте находятся патологические состояния плаценты и плодных оболочек, доля которых постепенно увеличивается и составляет 53,4% к 2021 г. Второе место занимают патологические состояния пуповины, частота которых также постоянно растет и в 2021 г. составляет 27,5%. На третьем месте в 2019 г. находятся заболевания и патологические состояния плода, включающие внутриутробную гипоксию плода, – 17,8%. Но в 2020 г. и 2021 г. на третье место выходят инфекционные причины смерти, доля которых составила 14,5% и 15,5% соответственно. При этом отмечено увеличение ассоциированных материнских состояний на 6,2%, что однако не имеет статистической значимости. Интересно, что в Великобритании, в отличие от Российской Федерации, гипоксия плода рассматривается как самостоятельная причина смерти, а не следствие патологии плаценты или пуповины, в связи с чем данная причина встречается лишь в 1% случаев, а на плацентарные осложнения приходится до 23,7% случаев [6, 21].

Данные, полученные при распределении основных причин смерти доношенных плодов в антенатальном периоде с использованием Скандинавско-Балтийской классификации и системы CODAC, подтверждают выводы, сделанные при анализе структуры причин антенатальной смерти доношенных плодов на основе классификации МКБ-ПС. Полагаем, что классификация МКБ-ПС сегодня является наиболее приспособленной и удобной для проведения анализа причин антенатальной смерти, позволяя провести более глубокий разбор этих ситуаций в сопоставлении с состоянием матери и периодом возникновения данного случая.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основной причиной антенатальной смерти доношенных плодов на территории Челябинской области в течение трех последних лет является острое антенатальное осложнение (внутриутробная гипоксия плода), которое обусловлено патологией плаценты и пуповины от 51,2 % в 2019 г. до 63,7% в 2021 г. Благодаря совершенствованию службы ультразвуковой диагностики врожденные аномалии, деформации и хромосомные нарушения как причина антенатальной смерти плода на доно-

шенном сроке с каждым годом встречается реже. Вместо этого на первый план выступают инфекции, специфичные для перинатального периода, и расстройства, связанные с продолжительностью беременности и ростом плода. От 88,9 % до 98,2 % случаев антенатальной смерти доношенных плодов относятся к предотвратимым, что обусловлено низкой чувствительностью и специфичностью способов оценки антенатального состояния плода. Это определяет крайнюю необходимость выявления предикторов риска данного неблагоприятного исхода для своевременной коррекции осложнений беременности и сроков родоразрешения, что может быть резервом снижения уровня мертворождаемости.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Коваленко В.Л., Казачков Е.Л., Надеев А.П. с соавт. Предотвратимость перинатальных потерь в Челябинске и Новосибирске. *Архив патологии* 2018;80(2):7–10. <http://doi.org/10.17116/patol20188027-10>.
Kovalenko VL, Kazachkov EL, Nadeyev AP et al. Preventability of perinatal losses in Chelyabinsk and Novosibirsk. *Archive of Pathology* 2018;80(2):7–10. (In Russ.). <http://doi.org/10.17116/patol20188027-10>.
2. Щеголев А.И., Павлов К.В., Дубова Е.А., Фролова О.Г. Мертворождаемость в субъектах Российской Федерации в 2010 г. *Архив патологии* 2013;75(2):20–24. <http://doi.org/10.17116/patol20188027-10>.
Shchegolev AI, Pavlov KV, Dubova EA, Frolova OG. Stillbirth rate in the subjects of the Russian Federation in 2010. *Archive of Pathology* 2013;75(2):20–24. (In Russ.). <http://doi.org/10.17116/patol20188027-10>.
3. Беженарь В.Ф., Иванова Л.А., Григорьев С.Г. Беременность «высокого риска» и перинатальные потери. *Акушерство и гинекология* 2020;3:42–47. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.3.42-47>.
Bezhenar VF, Ivanova LA, Grigoryev SG. High-risk pregnancy and perinatal losses. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;3:42–47. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.3.42-47>.
4. Иванов И.И., Ляшенко Е.Н., Косолапова Н.В. с соавт. Антенатальная гибель плода: нерешенные вопросы. *Таврический медико-биологический вестник* 2020;23(1):37–41. <https://dx.doi.org/10.37279/2070-8092-2020-23-1-37-41>.
Ivanov II, Lyashenko EN, Kosolapova NV et al. Antenatal fetal death: unresolved issues. *Taurian Medical and Biological Bulletin* 2020;23(1):37–41. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.37279/2070-8092-2020-23-1-37-41>.
5. Щеголев А.И., Туманова У.Н., Чаусов А.А., Шувалова М.П. Сравнительный анализ причин мертворождения в Российской Федерации в 2019 и 2020 годах. *Акушерство и гинекология* 2022;2:80–90. <http://doi.org/10.18565/aig.2022.2.80-90>.
Shchegolev AI, Tumanova DN, Chausov AA, Shuvalova MP. Comparative analysis of the causes of stillbirth in the Russian Federation in 2019 and 2020. *Obstetrics and Gynecology* 2022;2:80–90. (In Russ.). <http://doi.org/10.18565/aig.2022.2.80-90>.
6. Волков В.Г., Кастор М.В. Современные взгляды на проблему классификации и определения причин мертворождения. *Российский вестник акушера-гинеколога* 2020;20(3):29–34. <https://doi.org/10.17116/rosakush202003129>.
Volkov VG, Kastor MV. Modern views on the problem of classification and determination of the causes of stillbirth. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2020;20(3):29–34. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/rosakush202003129>.
7. Silver RM, Varner MW, Reddy U et al. Work-up of stillbirth: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196(5):433–444. <http://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.11.041>.
8. Гусак Ю.К., Чикин В.Г., Хованов А.В. с соавт. Антенатальная гибель плода: клинико-биохимические параллели и особенности родоразрешения. *Главный врач Юга России* 2020;5(75):18–23.
Gusak YK, Chikin VG, Khovanov AV et al. Antenatal fetal death: clinical and biochemical parallels and features of delivery. *Chief Physician of the South of Russia* 2020;5(75):18–23. (In Russ.).
9. Курцер М.А., Кутакова Ю.Ю., Сонгорова Е.Н. с соавт. Синдром внезапной смерти плода. *Акушерство и гинекология* 2011;7(1):79–83.
Kurtser MA, Kutakova Yu, Songolova EN et al. Sudden fetal death syndrome. *Obstetrics and Gynecology* 2011;7(1):79–83. (In Russ.).
10. Сексенова А.Б., Бузумова Ж.О., Базарбаева Ж.У. с соавт. Антенатальная гибель плода: возможные причины и анализ. *Вестник КазНМУ* 2017;3:11–13.
Seksenova AB, Buzumova JO, Bazarbaeva JU et al. Antenatal fetal death: possible causes and analysis. *Bulletin of KazNMU* 2017;3:11–13. (In Russ.).
11. Иванова Л.А., Титкова Е.В. Особенности строения плацентарного комплекса и основные причины перинатальных потерь. *Педиатр* 2018;9(1):5–10. <https://doi.org/10.17816/PED915-10>.
Ivanova LA, Titkova EV. Peculiarities of the structure of the placental complex and the main causes of perinatal losses. *Pediatr* 2018;9(1):5–10. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/PED915-10>.
12. Коротова С.В., Фаткуллина И.Б., Намжилова Л.С. с соавт. Современный взгляд на проблему антенатальной гибели плода. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)* 2014;7:5–10.
Korotova SV, Fatkullina IB, Namzhilova LS et al. Modern look at the problem of antenatal fetal death. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* 2014;7:5–10. (In Russ.).
13. Туманова У.Н., Щеголев А.И. Поражения плаценты в генезе мертворождения (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2017;3–1:77–81. <https://doi.org/10.17513/mjpf.11403>.
Tumanova UN, Shchegolev AI. Placental lesions in the genesis of stillbirth (review of the literature). *International Journal of Applied and Basic Research*. 2017;3–1:77–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/mjpf.11403>.
14. Баринаева И.В. Патогенез антенатальной смерти: фенотипы плодовых потерь и танатогенез. *Российский вестник акушера-гинеколога* 2015;15(1):68–78. <https://doi.org/10.17116/rosakush201515168-76>.

- Barinova I.V. Pathogenesis of antenatal death: fetal loss phenotypes and thanatogenesis. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist* 2015;15(1):68–78. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/rosakush201515168-76>.
15. Basu M, Johnsen I, Wehberg S et al. Causes of death among full term stillbirths and early neonatal deaths in the Region of Southern Denmark. *J Perinat Med* 2018;46(2):197–202. <https://doi.org/10.1515/jpm-2017-0171>.
16. Сонченко Е.А., Михельсон А.Ф., Лебедево Е.Ю. «Загадочная» антенатальная гибель плода (обзор литературы). *Здоровье и образование в XXI веке* 2017;10:54–156.
- Sonchenko EA, Michelson AF, Lebedenko EYu. “Mysterious” antenatal fetal death (review of the literature). *Health and education in the XXI century* 2017;(10):54–156. (In Russ.).
17. Захаренкова Т.Н., Санталова М.А. Клинико-морфологические параллели при антенатальной гибели плода. *Проблемы здоровья и экологии* 2017;53(5):18–24.
- Zakharenkova TN, Santalova MA. Clinical and morphological parallels in antenatal fetal death. *Problems of Health and Ecology* 2017;53(3):18–24. (In Russ.).
18. Белозерцева Е.П., Белокриницкая Т.Е., Иожефсон С.А. с соавт. Конфаундинг-факторы антенатальной гибели. *Дальневосточный медицинский журнал* 2014;4:50–52.
- Belozertseva EP, Belokrinskaya TE, Iosefson SA et al. Confounding factors of antenatal death. *Far Eastern Medical Journal* 2014;4:50–52. (In Russ.).
19. Bodnar LM, Parks WT, Perkins K et al. Maternal prepregnancy obesity and cause-specific stillbirth. *Am J Clin Nutr* 2015;102(4):858–864. <http://doi.org/10.3945/ajcn.115.112250>.
20. Баев О.Р., Приходько А.М., Зиганшина М.М. с соавт. Антенатальные и интранатальные факторы риска, ассоциированные с гипоксией плода в родах. *Акушерство и гинекология* 2022;8:47–53. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.8.47-53>.
- Baev OR, Prikhodko AM, Ziganshina MM et al. Antenatal and intrapartum risk factors associated with fetal hypoxia in labor. *Obstetrics and Gynecology* 2022;8:47–53. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.8.47-53>.
21. Froen JF, Pinar H, Flenady V et al. Causes of death and associated conditions (Codac) – a utilitarian approach to the classification of perinatal deaths. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2009;9:22. <http://doi.org/10.1186/1471-2393-9-22>.

Сведения об авторах:

А.В. Чижовская – аспирант;
Э.А. Казачкова – доктор медицинских наук, профессор;
Е.Л. Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
Ю.А. Семенов – кандидат медицинских наук, доцент.

Information about the authors:

A.V. Chizhovskaya – Post-graduate student;
E.A. Kazatchkova – Doctor of Science (Medicine), Professor;
E.L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
Yu.A. Semenov – Ph.D. in medicine, Associate Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests the authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University.

Информированное согласие было подписано всеми пациентками.

Informed consent was signed by all patients.

Статья поступила в редакцию 01.03.2023; одобрена после рецензирования 21.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 01.03.2023; approved after reviewing 21.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

Т-ЛИМФОБЛАСТНАЯ ЛИМФОМА ЛИМФОУЗЛОВ СРЕДОСТЕНИЯ С ВТОРИЧНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПОДРОСТКА

Илона Анатольевна Пастернак¹, Евгений Леонидович Казачков²,
Алексей Евгеньевич Пастернак³

¹⁻³ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

³ Челябинское областное бюро судебно-медицинской экспертизы, Челябинск, Россия

¹ pasternak.ilona@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3230-5194>

² doctorkel@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ pasternak74@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8199-1126>

Аннотация

Введение. Среди опухолей лимфатической ткани Т-лимфобластная лимфома является редким заболеванием, причём чаще страдают дети и подростки. В опухолевый процесс вовлекаются тимус, лимфатические узлы, регистрируется разнообразная экстранодальная локализация, однако описаний вторичного вовлечения ЩЖ в опухолевый процесс у детей при первичной лимфоме иной локализации в доступной литературе мы не встретили. **Цель исследования** – описание редкого наблюдения вторичного поражения щитовидной железы при лимфоме лимфоузлов средостения с расшифровкой иммунофенотипа опухоли у подростка путём проведения ретроспективного иммуноморфологического анализа операционного материала. Материалы и методы. Проанализирована архивная медицинская документация, данные клинических, лабораторных, инструментальных и морфологических исследований в случае неходжкинской лимфомы лимфоузлов средостения с поражением ЩЖ. Спустя 22 года на архивных парафиновых блоках проведено гистологическое изучение материала в окраске гематоксилином и эозином с последующим иммуногистохимическим исследованием с помощью набора из 16 моно- и поликлональных антител. **Результаты.** При морфологическом исследовании биоптата ЩЖ и резектата её перешейка сформулировано патологоанатомическое заключение: Неходжкинская лимфома щитовидной железы, пролимфоцитарный вариант. Благодаря адекватно спланированной программе полихимиотерапии удалось достичь длительную ремиссию с 22-летней безрецидивной выживаемостью. В итоге проведения сопоставлений полученных ретроспективных данных клинических, инструментальных, лабораторных исследований и результатов иммуногистохимического изучения архивного тканевого материала с помощью панели из 16 моно- и поликлональных антител было сформулировано следующее заключение: C83.5 (ICD-O code 9837/3) Т-лимфобластная лимфома лимфоузлов верхнего средостения с вторичным поражением щитовидной железы. Полная ремиссия после полихимиотерапии с 22-летней безрецидивной выживаемостью. **Обсуждение.** Показано, что правильно спланированное лечение на основе грамотной идентификации гисто- и цитогенеза опухоли в ходе слаженной командной работы специалистов различного профиля (гематологов, патологоанатомов, химиотерапевтов и др.) обусловило благоприятный исход. Удалось достигнуть длительной ремиссии с отсутствием регистрации рецидивов болезни в течение 22 лет. С помощью иммуноморфологического анализа, основанного на рекомендациях новой классификации опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей, на современном этапе развития медицинской науки удалось расшифровать иммунофенотип опухоли, что конкретизировало, но не опровергло заключение патологоанатомов, сделанное 22 года назад. **Заключение.** Анализ представленного случая показал, что иммунофенотип опухоли соответствовал Т-лимфобластной лимфоме с вторичным поражением ЩЖ. Несмотря на то, что при этой опухоли возможна любая экстранодальная локализация, в доступной нам литературе сведений о вторичном вовлечении ЩЖ в опухолевый процесс не удалось обнаружить.

Ключевые слова: Т-лимфобластная лимфома, щитовидная железа, безрецидивная выживаемость.

Для цитирования: Пастернак И.А., Казачков Е.Л., Пастернак А.Е. Т-лимфобластная лимфома лимфоузлов средостения с вторичным поражением щитовидной железы у подростка. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):135-141. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-135-141>.

T-LYMPHOBLASTIC LYMPHOMA OF MEDIASTINAL LYMPH NODES WITH SECONDARY THYROID INVOLVEMENT IN AN ADOLESCENT

Ilona A. Pasternak¹, Evgeny L. Kazachkov², Alexey E. Pasternak³

¹ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk regional office of forensic medical examination, Chelyabinsk, Russia

¹ pasternak.ilona@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3230-5194>

² doctorkel@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ pasternak74@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8199-1126>

Abstract

Introduction Among tumors of lymphatic tissue, T-lymphoblastic lymphoma is a rare disease, with children and adolescents being affected more often. The thymus, lymph nodes and various extranodal localizations are involved in the tumor process, but no descriptions of secondary thyroid involvement in the tumor process in children with primary lymphoma of other localizations were found in the available literature. **The aim of the study** was to describe a rare observation of secondary thyroid involvement in mediastinal lymphoma with deciphering of tumor immunophenotype in an adolescent immunomorphological analysis of surgical material. **Materials and methods.** We analyzed the archived medical records, data of clinical, laboratory, instrumental and morphological studies of non-Hodgkin's lymphoma of mediastinal lymph nodes with thyroid involvement. Histological examination of the material stained with hematoxylin and eosin followed by immunohistochemical examination with a set of 16 mono- and polyclonal antibodies was carried out 22 years later on the archive paraffin blocks. **Results** Morphological examination of the thyroid biopsy specimen and resectate of its isthmus made pathological and anatomical conclusion: non-Hodgkin's lymphoma of the thyroid gland, prolymphocytic variant. Thanks to an adequately planned program of polychemotherapy, it was possible to achieve long-term remission with a 22-year recurrence-free survival rate. The retrospective data of clinical, instrumental, laboratory investigations and the results of immunohistochemical analysis of the archived tissue material with the help of a panel of 16 mono- and polyclonal antibodies were compared and the following conclusion was made: C83.5 (ICD-O code 9837/3) upper mediastinal lymphocytic T-lymphoma with secondary damage of the thyroid gland. Complete remission after polychemotherapy with a 22-year recurrence-free survival. **Discussion** It was shown that correctly planned treatment on the basis of competent identification of the histo- and cytogenesis of the tumor in the course of well-coordinated teamwork of specialists of different profile (hematologists, pathologists, chemotherapists, etc.) resulted in a favorable outcome. We managed to achieve a long-term remission with no recurrence of the disease for 22 years. By means of immunomorphological analysis, based on the recommendations of new classification of the haemopoietic and lymphoid tissue tumors, at the present stage of medical science development we managed to decode the tumor immunophenotype, which made more concrete, but not refuted the pathological anatomists' conclusion, made 22 years ago. **Conclusion** Analysis of the presented case showed that the tumor immunophenotype corresponded to T-lymphoblastic lymphoma with secondary thyroid involvement. In spite of the fact that in this tumor any extranodal localization is possible, in the available literature we could not find any information about secondary involvement of thyroid in tumor process.

Key words: T-lymphoblastic lymphoma, thyroid gland, recurrence-free survival rate.

For citation:

Pasternak IA, Kazachkov EL, Pasternak AE. T-lymphoblastic lymphoma of mediastinal lymph nodes with secondary thyroid involvement in an adolescent. Ural medical journal 2023;22(2):135-141. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-135-141>

ВВЕДЕНИЕ

Среди опухолей лимфатической ткани Т-лимфобластная лимфома является редким заболеванием, причём чаще страдают дети и подростки [1, 2]. Уровень заболеваемости выше в Азии по сравнению с Европой и США и ниже – в экваториальной Африке. В опухолевый процесс, как правило, вовлекаются тимус, лимфатические узлы, у 50% паци-

ентов отмечается вторичное поражение кожи, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, регистрируется и другая экстранодальная локализация; течение болезни зачастую агрессивное, с рецидивами [3–5]. Опубликованные наблюдения первичного развития Т-лимфобластной лимфомы в щитовидной железе (ЩЖ) являются редкостью [6, 7]. Описаний экстранодального (вто-

ричного) вовлечения ЩЖ в опухолевый процесс у детей при первичной лимфоме иной локализации в доступной литературе мы не встретили. В этой связи представляет интерес наблюдение диагностики неходжкинской лимфомы с первичным поражением лимфоузлов средостения и вторичным вовлечением в процесс ЩЖ у подростка.

Цель работы – описание редкого наблюдения вторичного поражения щитовидной железы при лимфоме лимфоузлов средостения с расшифровкой иммунофенотипа опухоли у подростка путём проведения ретроспективного иммуноморфологического анализа операционного материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. В соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека» (2008), пациент был ознакомлен с целью работы и дал информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов в открытой печати.

Проанализирована архивная медицинская документация, данные клинических, лабораторных, инструментальных и морфологических исследований в случае неходжкинской лимфомы. Спустя 22 года после первичной госпитализации, проведенной полихимиотерапии и ежегодного наблюдения за пациентом констатировано безрецидивное течение процесса. Для расшифровки иммунофенотипа опухоли предпринято повторное структурное исследование архивного материала ЩЖ (парафиновые блоки) с применением иммуногистохимического метода [8, 9]. Гистологическое изучение материала в окраске гематоксилином и эозином на подготовленных с архивных парафиновых блоках срезах толщиной 5 мкм, предшествовавшее иммуногистохимическому исследованию, осуществлялось по общепринятым методикам [10]. Иммуногистохимическая панель была представлена моно и поликлональными антителами против Ki67 клон SP6, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), CD20 клон L26, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), CD79α клон JCB117, разведение 1:50 (Dako, USA), CD5 клон 4C7, разведение 1:50 (Dako, USA), CD3 клон F7.2.28, разведение 1:100 (Dako, USA), CD7 клон CVC37, разведение 1:300 (Dako, USA), CD99 клон 12E7, разведение 1:100 (Dako, USA), CD45 RO клон UCH, RTU (Dako, USA), терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (Tdt) poly, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), клон QBEnd/10, разведение 1:150 (Cell Marque, USA), миелопероксидазы (MPO) poly, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), панцитокератина (PCK) клон AE1/AE3, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), CD19 клон E3169, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), CD1α, клон 010, разведе-

ние 1:100 (Dako, USA), цитокератина 19 (CK19), клон A53-B, разведение 1:100 (Cell Marque, USA), CD21 клон Ep3093, разведение 1:100 (Cell Marque, USA). Исследование проводили на автоматическом иммуногистостейнере BenchMark XT Ventana с готовыми тест-системами согласно протоколу фирмы-производителя и с последующей докраской ядер гематоксилином Майера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мальчик Д., 13 лет, житель Челябинской области, поступил в июне 2000 г. в областной центр хирургической эндокринологии с жалобами на быстро нарастающее в течение месяца увеличение ЩЖ, затруднение дыхания, осиплость голоса, поперхивание при употреблении твердой пищи, повышение температуры до 37,5-38,0°C.

При осмотре: пациент занимает вынужденное положение сидя и опираясь руками на край кровати, обращает на себя внимание отчетливый цианоз носогубного треугольника. При исследовании верхних дыхательных путей зарегистрирован левосторонний парез гортани. При пальпации ЩЖ безболезненная, консистенция органа тестоватая, узловые образования не обнаружены. При рентгенографии органов грудной клетки зафиксировано расширение сердечной тени в обе стороны. При ультразвуковом исследовании (УЗИ) общий объем ЩЖ увеличен до 15 см³, превышая возрастной норматив для мальчиков [11] на 25%, при этом не исключено объемное образование левой доли ЩЖ. При компьютерной томографии органов средостения и шеи была описана картина лимфомы, исходящей из лимфоузлов верхнего средостения с вовлечением ЩЖ.

Произведена открытая биопсия левой доли и резекция перешейка ЩЖ в связи с нарастающей дыхательной недостаточностью, по поводу чего была наложена трахеостома. При патологоанатомическом исследовании биоптата и резектата ЩЖ установлено, что ткань органа диффузно инфильтрирована опухолевыми клетками, напоминающими по строению зрелые лимфоциты, с гиперхромией округлых ядер с грубым хроматином, слабо выраженным ядерным полиморфизмом и узкими ободками базофильной цитоплазмы. Среди относительно мономорфных лимфоцитоподобных клеток опухоли регистрировались лежащие одиночно и группами клеточные элементы, напоминающие лимфобласты, с округлыми гиперхромными ядрами и хорошо представленной бледно-базофильной цитоплазмой.

Сформулировано патологоанатомическое заключение: Неходжкинская лимфома щитовидной железы, пролимфоцитарный вариант.

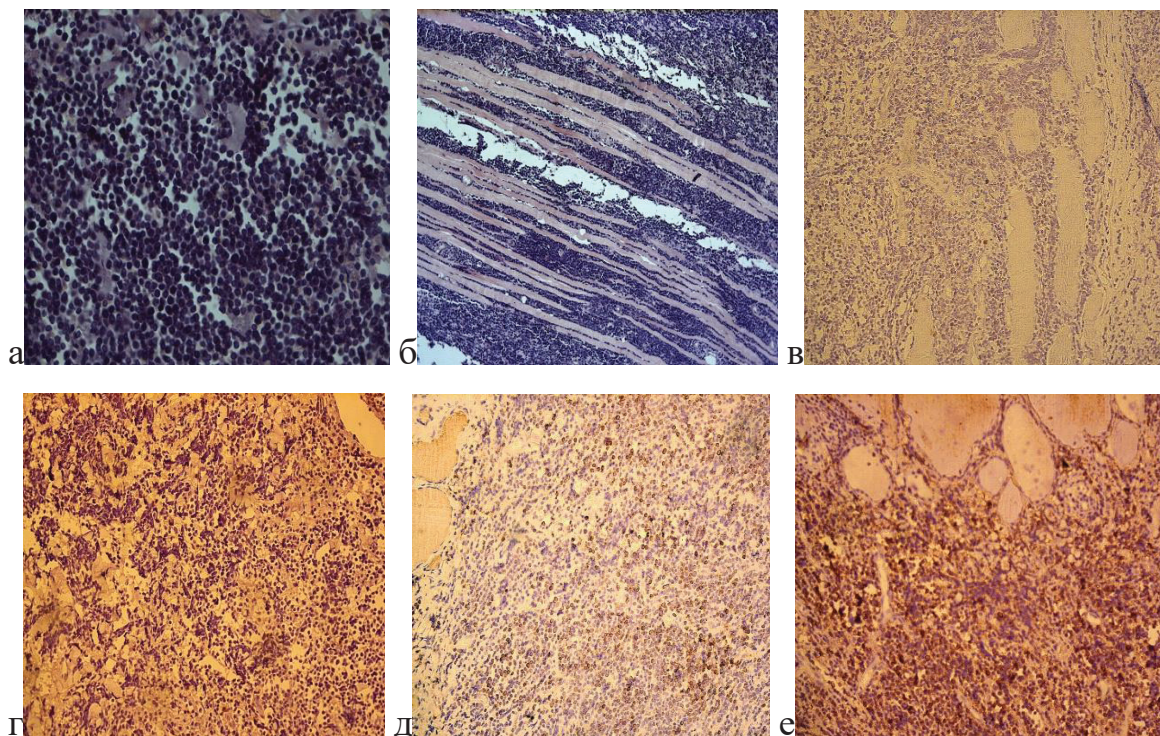
Пациенту проведены курсы фотодинамической, лазерной терапии, полихимиотерапия по протоколу NHL-BFM-90, а также дистанционная гамма-терапия головного мозга для профилактики

ки нейрорлейкоза. На фоне проведенной терапии отмечена положительная клиническая динамика: нормализовалось дыхание, купирован парез левой голосовой связки, исчезла осиплость голоса и поперхивание во время еды. При УЗИ ЩЖ размеры и объем органа соответствовали возрастной норме. При контрольной компьютерной томографии органов грудной клетки, средостения и шеи – норма. В апреле 2001 г. закрыта трахеостома. Была достигнута полная ремиссия, подтвержденная последующим 22-летним диспансерным наблюдением за пациентом с констатацией отсутствия рецидива.

В наши дни с учётом редкости наблюдения вторичного поражения ЩЖ при лимфоме лимфоузлов верхнего средостения и с целью расшифровки иммунофенотипа опухоли нами проведено ретроспективное патоморфологическое исследование архивного биопсийного материала ЩЖ пациента Д. Для этого из парафиновых блоков изготовлены срезы ткани органа, которые были депарафинированы, окрашены гематоксилином и эозином, а в последующем подвергнуты иммуноморфологическому исследованию по общепринятой методике [8].

При микроскопическом исследовании (рис. 1 а): в ткани ЩЖ определяется опухолевый инфильтрат из монотипных клеток, достигающих размера среднего лимфоцита (9 мкм) [12], с гиперхромными ядрами, мелкодисперсным хроматином, узким ободком цитоплазмы и высоким ядерно-цитоплазматическим индексом (рис. 1 а). Инфильтрат носит диффузный характер, распро-

страняется на окружающие мышцы и жировую клетчатку, приводя к фрагментации миоцитов (рис. 1 б). Митозы регистрируются часто, маркер пролиферативной активности Ki-67 экспрессируется в ядрах 45-50% опухолевых клеток (рис. 1 в). В инфильтрате определяются единичные В-лимфоциты (CD20+, CD79α), основная масса клеточных элементов опухоли позитивно реагирует с маркером зрелых Т-лимфоцитов (CD5+) (рис. 1 г). Более половины опухолевых клеток реагируют с меткой CD3+ – основным маркером Т-лимфоцитов, демонстрируя положительное мембранозное окрашивание (рис. 1 д), а также с наиболее надёжным маркером Т-лимфоцитарной лимфобластной лейкемии – CD7+ (рис. 1, е). Мембранная экспрессия CD99+ (рис. 1, ж) и CD45+ RO обнаруживается в 50% опухолевых клеток (рис. 1, з), что свидетельствует об активности в новообразовании «Т-лимфоцитов памяти» человека с характерным наличием изоформы, несущей CD45 RO-эпитоп. CD99+ представляет собой трансмембранный белок с высокой степенью O-гликозилирования, который кодируется геном CD99 у людей, а его усиленная экспрессия указывает на повышение адгезии Т-лимфоцитов [13]. Ядерная экспрессия Tdt обнаруживается у 30% клеток инфильтрата (рис. 1, и). Фермент Tdt – внутриклеточная ДНК-полимераза более характерна для клеток лимфоидного ряда и является признаком незрелости лимфоцитов. CD34+ окраска отмечается в единичных клетках (рис. 1 к). Реакция на MPO, PCK (рис. 1 л), CK19 (рис. 1 м), CD1α, CD19, CD21 в опухолевых клетках отрицательная.



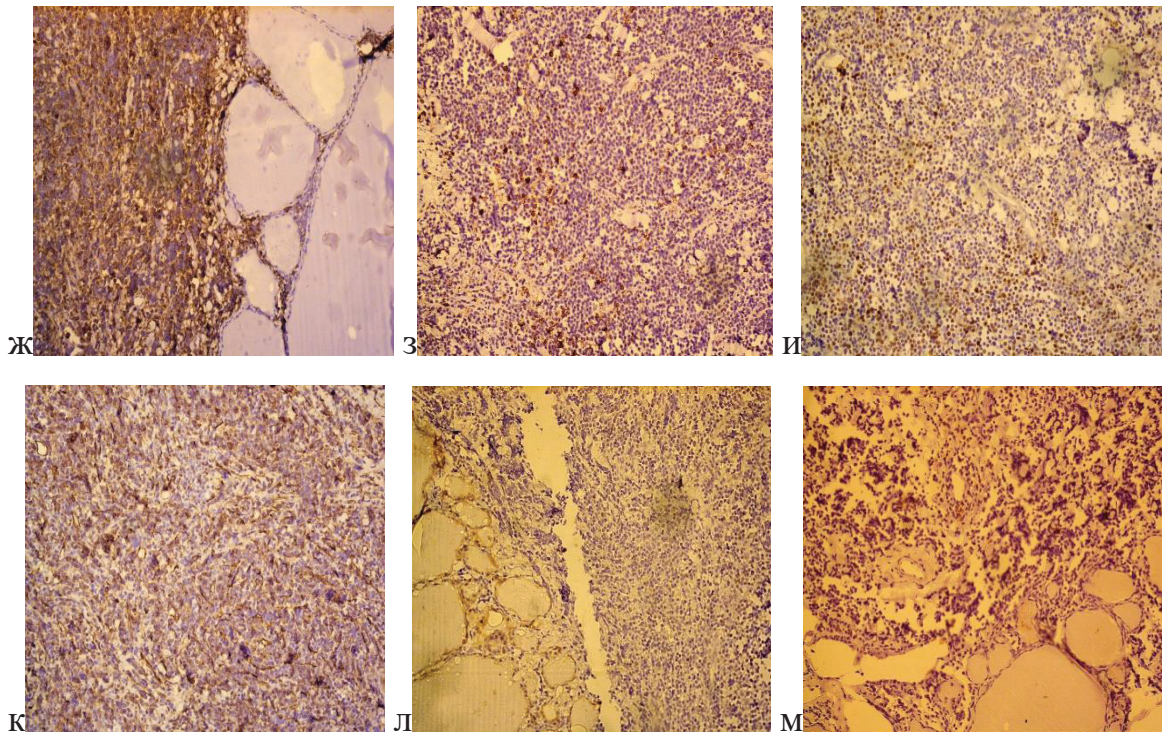


Рис. 1. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика Т-лимфобластной лимфомы лимфоузлов средостения с вторичным поражением щитовидной железы. Окраска: а, б – гематоксин и эозин; в–м – иммуногистохимические методы с использованием моно- и поликлональных антител к: в – Ki67; г – CD5; д – CD3; е – CD7; ж – CD99; з – CD45 RO; и – Tdt; к – CD34, л – PCK; м – CD19. Увеличение: а – $\times 400$; б, в – $\times 100$; г–м – $\times 200$.

В итоге проведения сопоставлений полученных ретроспективных данных клинических, инструментальных, лабораторных исследований и результатов настоящего иммуногистохимического изучения архивного тканевого материала с помощью панели из 16 моно- и поликлональных антител было сформулировано следующее заключение:

Заключение: C83.5 (ICD-O code 9837/3) Т-лимфобластная лимфома лимфоузлов верхнего средостения с вторичным поражением щитовидной железы. Полная ремиссия после полихимиотерапии с 22-летней безрецидивной выживаемостью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Неходжкинские лимфомы представляют собой группу биологически и гистологически неоднородных злокачественных новообразований лимфоидной системы с неясной этиологией [14, 15]. Данная патология достаточно хорошо охарактеризована у взрослых пациентов [16], тогда как описание случаев первичных экстранодальных НХЛ у детей представлено в литературе в виде единичных наблюдений [17, 18]. И если публикации о первичном развитии Т-лимфобластной лимфомы в щитовидной железе (ЩЖ) также единичны [7], то описаний вторичного вовлечения ЩЖ в опухолевый процесс у детей при первичной нодальной лимфоме иной локализации в доступной литературе не обнаружено.

В настоящей статье приводится наблюдение Т-лимфобластной лимфомы лимфоузлов средосте-

ния с вторичным поражением щитовидной железы у 13-летнего подростка. Уделено внимание этапам и методам диагностики этой нозологической формы, междисциплинарному подходу к диагностическому процессу, в котором ключевой фигурой при формулировании диагноза явился патологоанатом. Отмечено, что благодаря разработанным программам полихимиотерапии удалось достигнуть длительной ремиссии с отсутствием регистрации рецидивов болезни в течение 22 лет. Правильно спланированное лечение на основе грамотной идентификации гисто- и цитогенеза опухоли в ходе слаженной командной работы специалистов различного профиля (гематологов, патологоанатомов, химиотерапевтов и др.) обусловила благоприятный исход. С помощью иммуноморфологического анализа, основанного на рекомендациях новой классификации опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей [15], на современном этапе развития медицинской науки удалось расшифровать иммунофенотип опухоли, распространившейся из лимфоузлов верхнего средостения на ЩЖ, что конкретизировало, но не опровергло заключение патологоанатомов, сделанное 22 года назад.

Несмотря на то, что, по данным разных источников, при этой опухоли возможна любая экстранодальная локализация [3–5], в доступной нам литературе сведений о вторичном вовлечении ЩЖ в опухолевый процесс не удалось обнаружить. Следует отметить, что за последние 15 лет отмечается

улучшение показателей безрецидивной выживаемости детей и подростков при данной агрессивной опухоли, что обусловлено развитием современных технологий (в т.ч. трансплантологии) и появлением менее токсичных химиопрепаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ представленного случая показал, что иммунофенотип опухоли соответствовал Т-лимфоцитарной лимфоме с вторичным поражением ЦЖ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Shukla N, Trippett T. Non-Hodgkin's lymphoma in children and adolescents. *Curr Oncol Rep* 2006;8(5):387–394. <https://doi.org/10.1007/s11912-006-0062-0>.
2. Teachey DT, Pui CH. Comparative features and outcomes between paediatric T-cell and B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2019;20(3):e142–e154. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30031-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30031-2).
3. Burkhardt B, Mueller S, Khanam T, Perkins SL. Current status and future directions of T-lymphoblastic lymphoma in children and adolescents. *Brit J Hematology* 2016;173(3):545–559. <https://doi.org/10.1111/bjh.14017>.
4. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. (eds) WHO Classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon : IARC; 2017. pp. 209–212.
5. Teachey D, O'Connor D. How I treat newly diagnosed T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma in children. *Blood* 2020;135(3):159–166. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001557>.
6. Chen C, Yang Y, Jin L et al. Primary thyroid T-lymphoblastic lymphoma: a case report and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;7(1):443–450.
7. Yoshihara S, Nakaya M, Ichikawa T. T-cell lymphoblastic lymphoma in a child presenting as rapid thyroid enlargement. *Case Rep Otolaryngol* 2014;2014(4):368590. <https://doi.org/10.1155/2014/368590>.
8. Петров С.В., Райхлин Н.Т. (ред.) Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань. 2012. С. 283–338.
9. Семенов В.М., Пашинская Е.С., Побяржин В.В. с соавт. Иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы диагностики онкологических заболеваний (обзор литературы). Вестник ВГМУ 2017;16(2):15–25. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2017.2.15>.
10. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград, 1961; С. 114–131.
11. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Ленинград, 1961; pp. 114–131. (In Russ.).
12. Фисенко Е.П., Гуревич А.И. (сост.) Методика проведения УЗИ щитовидной и паращитовидных желёз у взрослых и детей: методические рекомендации № 77. Москва. 2019; С. 7–11.
13. Fisenko E.P., Gurevich A.I. (compilers) Technique of Ultrasound of Thyroid and Parathyroid Glands in Adults and Children: Methodical Recommendations N77. Department of Health. Moscow. 2019; pp. 7–11. (In Russ.).
14. URL: <https://niioz.ru/upload/iblock/63f/63f6c4db6c2f7cf0a9b461f4cff6f58b.pdf>.
15. Kato A, Hulse KE, Tan BK, Schleimer RP. B-lymphocyte lineage cells and the respiratory system. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131(4):933–957. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.02.023>.
16. Bernard G, Raimondi V, Alberti I et al. CD99 (E2) up-regulates alpha4beta1-dependent T cell adhesion to inflamed vascular endothelium under flow conditions. *Eur J Immunol* 2000;30(10):3061–3065. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200010\)30:10<3061::AID-IMMU3061>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200010)30:10<3061::AID-IMMU3061>3.0.CO;2-M).
17. Хансон К.П., Имянитов Е.Н. Эпидемиология и биология неходжкинских лимфом. *Практическая онкология* 2004;5(3):163–168.
18. Hanson KP, Imyanitov EN. Epidemiology and biology of non-Hodgkin's lymphomas. *Practical oncology* 2004;5(3):163–168. (In Russ.).
19. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. (editors). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon, France; 2017; pp. 325–422.
20. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016;127(20):2375–2390. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>.
21. Валиев Т.Т., Морозова О.В., Серебрякова И.Н. с соавт. Первичные экстранодальные неходжкинские лимфомы у детей. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика* 2009;4(4):334–339.
22. Valiev TT, Morozova OV, Serebryakova IN et al. Primary extranodal non-Hodgkin's lymphomas in children. *Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice = Klinicheskaja onkogematologija. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaja praktika* 2009;4(4):334–339. (In Russ.).
23. Hochberg J, Waxman IM, Kelly KM et al. Adolescent non-Hodgkin lymphoma and Hodgkin lymphoma: state of the science. *Br J Haematol* 2009;144(1):24–40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07393.x>.

Сведения об авторах:

И.А. Пастернак – кандидат медицинских наук;
Е.Л. Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
А.Е. Пастернак – кандидат медицинских наук

Information about the authors:

I.A. Pasternak – Ph.D. in medicine;
E.L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
A.E. Pasternak – Ph.D. in medicine.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source The authors state that there is no external funding for the study.

Этическая экспертиза не требуется.

Ethics approval is not required.

Информированное согласие было подписано пациентом.

Informed consent has been signed by the patient.

Статья поступила в редакцию 17.02.2023; одобрена после рецензирования 02.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 17.02.2023; approved after reviewing 02.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ХРОНИЧЕСКИЙ ЭНДОМЕТРИТ – ЗАТЯНУВШАЯСЯ ДИСКУССИЯ

Гулрухсор Хайбуллоевна Толибова¹, Татьяна Георгиевна Траль²

^{1,2} Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

¹ gulyatolibova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6216-6220>

² ttg.tral@yandex.ru, <https://orcid.org/orcidID/0000-0001-8948-4811>

Аннотация

Введение. Хронический эндометрит (ХЭ) является одним из важнейших факторов, приводящих к снижению фертильности у женщин. Затянувшаяся дискуссия о наличии данной нозологии в клинической практике на протяжении более 100 лет не позволяет установить истинную частоту ХЭ у женщин репродуктивного возраста. На современном этапе в связи с неблагоприятной демографической ситуацией, как в РФ, так и во многих странах, изучение ХЭ, как одной из главных детерминант нарушения морфофункционального состояния эндометрия является актуальным. **Цель исследования** – определение современного состояния проблемы верификации ХЭ при бесплодии, репродуктивных потерях и неэффективных циклах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). **Материал и методы.** Источниками информации послужили публикации из баз данных PubMed, Google Scholar, elibrary.ru и в российских профильных журналах, относящихся к акушерству и гинекологии, а также патологической анатомии в период с 2013 по 2022 г. **Результаты и обсуждение.** Анализ литературы показал, что ХЭ является причиной бесплодия, невынашивания беременности и неэффективных протоколов ВРТ и приводит к патологии регенеративного потенциала и снижению эндометриального резерва. Несмотря на доказанность негативного влияния ХЭ на репродуктивную функцию женщины, на современном этапе дискуссия относительно диагностических подходов к данной нозологии продолжается. Использование гистологического метода исследования, как основного и общедоступного метода диагностики состояния эндометрия не всегда позволяет верифицировать ХЭ, что диктует необходимость и целесообразность применения высокотехнологичных методов для подтверждения и уточнения степени выраженности патологического процесса. **Заключение.** Единый алгоритм диагностики ХЭ у пациенток с бесплодием, невынашиванием беременности, неэффективных циклов вспомогательных репродуктивных технологий и квалифицированный подход к морфологической диагностике состояния эндометрия, стандартизация диагностики ХЭ, грамотная интерпретация данных иммуногистохимического исследования позволяют подобрать патогенетически обоснованную терапию, нацеленную на реабилитацию репродуктивной функции.

Ключевые слова: хронический эндометрит, бесплодие, репродуктивные потери, гистологическое исследование, иммуногистохимическое исследование.

Для цитирования: Толибова Г.Х., Траль Т.Г. Хронический эндометрит – затянувшаяся дискуссия. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):142-152. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-142-152>.

© Толибова Г.Х., Траль Т.Г., 2023

© Tolibova G.Kh., Tral T.G., 2023

CHRONIC ENDOMETRITIS: A PROTRACTED DISCUSSIONGulruhsor Kh. Tolibova¹, Tat'jana G. Tral²^{1,2} Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia¹ Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia² State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia¹ gulyatolibova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6216-6220>² ttg.tral@yandex.ru, <https://orcid.org/orcidID/0000-0001-8948-4811>**Abstract**

Introduction Chronic endometritis is one of the most important factors leading to reduced fertility in women. The protracted discussion about the presence of this nosology in clinical practice for more than 100 years does not allow to establish the true frequency of chronic endometritis in women of reproductive age. At the present stage, due to the unfavorable demographic situation both in the Russian Federation and in many countries, the study of chronic endometritis, as one of the main determinants of the lesions of the morphological and functional state of the endometrium, is relevant. **The purpose** of the study is to determine the current state of the problem of verification of chronic endometritis in women with infertility, reproductive losses and repeated failure of assisted reproductive technologies (ART). **Materials and methods** The sources of information were publications from the databases PubMed, Google Scholar, elibrary.ru and Russian medical journals in the field of obstetrics and gynecology, as well as pathological anatomy in the period from 2013 to 2022. **Results and discussion** An analysis of the literature showed that chronic endometritis is the cause of infertility, miscarriage and ineffective ART protocols and leads to decrease of the regenerative potential and endometrial reserve. Despite the evidence of the negative impact of chronic endometritis on the reproductive function, at the present stage, the discussion regarding diagnostic approaches to this nosology continues. The use of the histological method of research, as the main and available method for diagnosing the state of the endometrium, is not always allow to verify chronic endometritis, which dictates the need of using high technological methods to confirm and clarify the severity of the pathological process. **Conclusion** A unified algorithm for diagnosing chronic endometritis in patients with infertility, miscarriage, ineffective ART cycles and a qualified approach to the morphological diagnosis of the state of the endometrium, standardization of the diagnosis of chronic endometritis, and competent interpretation of immunohistochemical data make it possible to select a pathogenetically substantiated therapy aimed at the rehabilitation of reproductive function.

Key words: chronic endometritis, infertility, reproductive losses, histological examination, immunohistochemical examination.

For citation:

Tolibova GKh, Tral TG. Chronic endometritis: A protracted discussion. Ural medical journal 2023;22(2):142-152. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-142-152>

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных патогенетических детерминант патологии репродуктивной функции женщины является хронический эндометрит (ХЭ), играющий ключевую роль в нарушении морфофункциональных характеристик эндометрия с нарушением циклической трансформации и репродуктивных неудачах [1–5]. Показано, что ХЭ оказывает негативное влияние на репродуктивный потенциал женщины в репродуктивном возрасте 25–40 лет с увеличением частоты выявления первично хронических форм и характеризуется высокой вариабельностью разброса данных: при бесплодии выявляется в 2,8–56,8%, повторных неудачах имплантации в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в 14–67,5%, при привычном невынашивании беременности частота выявления ХЭ составляет от 9,3 до 70%, что свидетельствует о неоднозначных и нестандартизированных подходах к клинической и морфологической диагностике данной патологии [6–15].

Следует отметить, что на протяжении длительного времени предметом дискуссии была правомерность формулировки «хронический эндометрит», противники которой апеллировали к отсутствию формальных критериев констатации хронического воспалительного процесса при ежемесячном циклическом отторжении ткани эндометрия и стерильности полости матки [16–18].

В то же время, в 1975 году ХЭ, как нозология был включен в международную классификацию болезней IX (МКБ IX), а затем в МКБ X пересмотра (N71.1 Хронические воспалительные болезни матки), и в международную Классификацию болезней XI пересмотра (переходный период до 2026 г.), «хронический эндометрит» представлен кодом GA01.10. Таким образом, дискуссия о существовании ХЭ, как отдельной нозологии должна быть закрыта.

К сожалению, следует отметить, что вековая дискуссия о наличии ХЭ и его роли при бесплодии и репродуктивных потерях, отсутствие единого клинико-морфологического алгоритма диагностики не позволяет выяснить истинную частоту данной патологии, что, несомненно, ведет к разным подходам в обследовании и ведении пациенток с патологией репродуктивной функции. Несмотря на доказанность факта не только наличия, но и влияния хронического эндометрита на репродуктивный потенциал женщины необходимо констатировать, что эндометрий, так и остается недооцененным звеном репродукции.

Цель исследования – определение современного состояния проблемы верификации хронического эндометрита при бесплодии, репродуктивных потерях и неэффективных циклах вспомогательных репродуктивных технологий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Источниками информации послужили публи-

кации в свободном доступе из баз данных PubMed, Google Scholar, elibrary.ru и в российских профильных журналах, относящихся к акушерству и гинекологии, а также патологической анатомии в период с 2013 по 2022 г., а также учебные пособия. Были использованы только полнотекстовые статьи, метаанализы и обзоры.

Поисковые слова: «хронический эндометрит у человека» в сочетании с одномоментным использованием нескольких терминов «бесплодие», «вспомогательные репродуктивные технологии», «гистологическое исследование», «CD138», «фиброз в эндометрии», «апоптоз в эндометрии», «морфологическая диагностика», «chronic endometritis», «infertility», «ART», «apoptosis in the endometrium», «fibrosis in the endometrium», «morphological diagnostics», «histological examination». Всего было проанализировано 445 источников из PubMed, 967 – из Google Scholar, 1318 – из elibrary.ru. Выбранные литературные данные были проанализированы, систематизированы. В обзор вошли научные материалы, наиболее полно отражающие патоморфологические механизмы влияния хронического эндометрита на репродуктивную функцию женщины.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Многочисленные клинические и морфологические исследования доказывают ключевую роль ХЭ при бесплодии, неразвивающейся беременности, невынашивании беременности и повторных неудачах протоколов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [19–25].

Хронический эндометрит влияет на все структурно-функциональные звенья эндометрия. Основной проблемой при ХЭ является не просто наличие факта присутствия патологического агента в эндометрии, а длительность течения заболевания, распространенность повреждения ткани, локальные перестройки иммунной системы и специфические морфофункциональные изменения [26–28]. Проникновение в базальный слой эндометрия патологических агентов влечет за собой изменение цитокинового статуса, что активирует миграцию иммунных клеток в зону воспаления, пролиферацию и апоптоз. Приоритетными клетками иммунной защиты эндометрия являются В-клетки лимфоидных фолликулов базального слоя, составляющие менее 1% всей популяции клеток в непатологическом эндометрии человека [29, 30]. В патологических условиях в очаг воспаления привлекаются и циркулирующие В-лимфоциты, при этом продуцируемые В-лимфоцитами (IL-6, IL-10, GM-CSF и IL-17) способствуют хронизации воспалительных изменений в эндометрии, а сами В-лимфоциты в последующем дифференцируются в плазмочиты, обладающие секреторной активностью противовоспалительных с преимущественной концентрацией в базальном слое, в котором в

норме они не выявляются [31–34].

В патологических условиях в очаг воспаления привлекаются и циркулирующие В-лимфоциты, способные синтезировать IL-6, IL-10, GM-CSF и IL-17 и потенцировать хронизацию воспалительных изменений в эндометрии. Непосредственно сами В-лимфоциты в последующем дифференцируются в плазмоциты, обладающие секреторной активностью противовоспалительных медиаторов, при этом преимущественная концентрация плазмоцитов происходит в базальном слое, где в норме они не выявляются [31–34].

Кроме В-лимфоцитов в лимфоидных фолликулах базального слоя, в строме и эпителии желез эндометрия присутствует небольшое количество Т-клеток – CD8+ лимфоцитов, количество которых увеличивается при ХЭ, прежде всего, вирусной этиологии с преимущественным перигландулярным скоплением воспалительных инфильтратов, что указывает на противовирусную активность CD8+ Т-лимфоцитов [35–37].

Локальный иммунитет, испытывая длительную антигенную стимуляцию, теряет способность полностью элиминировать инфекционный агент, не смотря на активацию Т-лимфоцитов и макрофагов, необходимых в том числе для реализации процессов физиологической регенерации эндометрия. Макрофаги и Т-лимфоциты стимулируют пролиферацию и дифференцировку фибробластов эндометрия в фиброциты, способных синтезировать молекулы-предшественники коллагена и эластина, а также гликопротеиды внеклеточного матрикса [38–40]. Патогенез воспаления в тканях при наличии инфекционного агента (бактерий, вирусов) или в ответ на повреждение имеет общие сигнальные пути, обусловленные патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP) и молекулярными паттернами повреждения (DAMP), которые активируют Toll-подобные рецепторы (TLR) и инфламасомы, вызывая и поддерживая длительное воспаление [41] путем гиперэкспрессии факторов роста, протеолитических ферментов, ангиогенных факторов и фиброгенных цитокинов с избыточным синтезом соединительной ткани, развитием фиброза и последующим разрушением гистеоархитектоники ткани [42, 43].

Непосредственное токсическое влияние цитокинов и фибропластические изменения в эндометрии при ХЭ нарушают клеточную дифференцировку и секреторную трансформацию через aberrантную экспрессию рецепторов эстрогенов и прогестерона, индуцирует резистентность к прогестерону [44–48] и привычное невынашивание беременности [49, 50].

Несмотря на доказанную значимость ХЭ в реализации репродуктивной функции со стороны врачей акушеров-гинекологов не всегда уделяется достаточное внимание данной нозологии, что, вероятно, связано с изменением этиологических

факторов в сторону преобладания условно-патогенной флоры и увеличением значимости роли вирусной инфекции, а также атипичностью, малосимптомностью и медленным прогрессированием заболевания [51, 52].

У пациенток с патологией репродуктивной функции выявлено значимое и разнообразное изменение спектра микробиоты полости матки с преобладанием полимикробной этиологии и микст-инфекции в 30–40% случаев [53, 54]. Наиболее часто в эндометрии при ХЭ и патологии репродуктивной функции выявляют бактерии (стрептококки, кишечная палочка, *Enterococcus faecalis* и виды стафилококков), виды микоплазмы/уреаплазмы (*Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*), виды протей, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. [55, 56]. Ряд авторов постулируют высокую значимость именно герпес-вирусных агентов в генезе бесплодия [57], тогда как у пациенток с привычным невынашиванием беременности патогенная флора представлена чаще вирусно-бактериальными ассоциациями (52,5%) и микст-инфекцией (32,5 %) [58, 59]. Также часто выявляются *Enterococcus faecalis* и *Streptococcus agalactiae*, что не позволяет определить ведущего возбудителя в патогенезе специфического воздействия и патологического влияния на развивающийся эмбрион [60, 61].

Несмотря на обширную доказательную базу о выявлении патологических агентов в эндометрии зачастую микробиологические пробы эндометрия могут быть стерильными, но иметь морфологические признаки ХЭ разной степени выраженности. Подобные ситуации связаны с последствием влияния первичного агента и формированием вторичных структурных изменений (фиброз, склероз стромы и сосудистого русла) в эндометрии [62–64], а также изменением дисбаланса иммунного микроокружения эндометрия с вторичным иммунодефицитным состоянием даже при отсутствии возбудителя [65, 66].

Общепризнанным является факт, что золотым стандартом в диагностике патологии эндометрия является морфологическое исследование биоптатов эндометрия. В Клинических рекомендациях от 05.03.2019 N 15-4/И/2-1913 «Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению)» написано, что «Биопсия эндометрия с гистологическим исследованием биоптата не должна использоваться в качестве рутинной оценки овуляции и секреторной трансформации эндометрия», при этом в комментариях указано, что «гистологическая оценка состояния эндометрия показана при подозрении на патологические процессы эндометрия (хронический эндометрит, полип, гиперплазия)». Клинические рекомендации от 5 марта 2019 №15-4/И/2 - 1908 «Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация» регламентируют «оценку состоя-

ния эндометрия: ультразвуковое исследование эндометрия, по показаниям гистероскопия и/или биопсия эндометрия». В приказе от 31.07.2020 N 803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению «одним из показаний к суррогатному материнству является патология эндометрия «синехии, облитерация полости матки, атрофия матки». Однако в Клинических рекомендациях – Женское бесплодие – 2021-2022-2023 (24.06.2021) указано, что «с целью уточнения причины бесплодия не рекомендовано рутинно направлять пациентку на проведение биопсии эндометрия». К сожалению, проведение иммуногистохимического исследования, как дополнительного высокотехнологичного и высокоинформативного метода для верификации диагноза, в клинических рекомендациях и приказах МЗ РФ не отражено.

Несмотря на разноплановые подходы к регламентации биопсии эндометрия у пациенток с патологией репродуктивной функции не определены критерии диагностики состояния эндометрия с точки зрения фазы менструального цикла, а также нет унифицированных требований к оценке эффективности лечения хронического эндометрита.

На протяжении длительного времени в клинической практике была принята морфологическая оценка эндометрия в первую фазу менструального цикла (8-10 день). Сторонники данного подхода мотивировали это низким количеством иммунокомпетентных клеток в эндометрии в норме [67–69]. Наши многолетние исследования доказали, что диагностическая оценка патологии эндометрия в первую фазу цикла не столь информативна, так как не позволяет оценить влияние хронического эндометрита на последующую секреторную трансформацию эндометрия. Кроме того, преимущества исследования эндометрия во вторую фазу менструального цикла связаны со снижением риска травматизации базального слоя эндометрия, наличием возможности для оценки всех звеньев морфогенеза трансформации эндометрия: секреторной трансформации эндометрия, высокой диагностической значимости оценки рецепторного профиля, иммунного профиля, ангиогенеза при наличии достаточного объема материала для проведения комплексного морфологического исследования (гистологического, иммуногистохимического, других видов при необходимости). Кроме того, крайне важно акцентировать внимание на категорическую неприемлемость проведения повторной биопсии эндометрия дважды за один менструальный цикл! [70]

Гистологическое исследование эндометрия не теряет актуальности на протяжении длительного времени и остается высокоинформативным и доступным методом диагностики состояния эндометрия, несмотря на возможности использования омиксных технологий [71, 72]. Рутинное гисто-

логическое исследование является базовым параметром оценки соответствия эндометрия дню менструального цикла относительно дня биопсии, оценки полноценности секреторной трансформации, оценки сосудистого компонента, диагностики хронического эндометрита и фибропластических изменений в эндометрии [73–75], выявления гиперпластической и онкологической трансформации эндометрия.

Необходимо подчеркнуть, что морфологические признаки ХЭ не претерпели изменений и по-прежнему базируются на инфильтрации стромы эндометрия лейкоцитами, лимфоцитами, макрофагами, NK-клетками плазмócитами, формировании лимфоидных инфильтратов, склерозе спиральных артерий и стромы, очаговой гиперплазии базального слоя, оказывающих негативное влияние на процесс имплантации эмбриона [76, 77].

Однако, при высокой доступности и неоспоримой эффективности гистологического исследования классические признаки ХЭ не всегда четко верифицируются, что диктует возможность и необходимость проведения высокотехнологичных методов исследования.

Следует признать, что возможность проведения иммуногистохимического исследования в патологоанатомической практике ограничена и обусловлена значительными финансовыми затратами на его реализацию. В таких случаях зачастую биопсийно-операционный материал разделяют и направляют на гистологическое и иммуногистохимическое исследование в разные учреждения. Необходимо отметить, что подобный подход к «разделению материала» категорически недопустим в связи с потерей объема материала и возможным разногласиям при написании заключения. Если лаборатория не имеет возможности проведения иммуногистохимического исследования, проводится гистологическое исследование и после этого готовый парафиновый блок отправляется в лабораторию, где возможно проведение иммуногистохимического исследования. Проведение гистологического исследования является базовым уровнем оценки эндометрия, объективизирующим дальнейшие высокотехнологичные методы диагностики, окончательное заключение при которых формулируется по совокупности гистологического и иммуногистохимического исследований.

В репродуктивной морфологии на современном этапе с целью верификации ХЭ используются различные маркеры. Первые комбинации маркеров (CD16+, CD56+, CD20+, HLA-DR II) для верификации ХЭ хорошо известны и активно использовались для установления аутоиммунного эндометрита, как нозологии, что противоречит данным МКБ X, XI пересмотра.

На сегодняшний день широко распространенным является факт исследования плазмócитов (CD138) в иммуногистохимической диагностике ХЭ.

Однако, исследователи до сих пор не пришли к единому мнению относительно количества клеток для верификации ХЭ. Ряд исследователей предлагают верификации ХЭ при обнаружении 1 клетки, другие предполагают о необходимости верификации более 5 плазмоцитов в поле зрения [78], также было предложено разделить тяжесть ХЭ по количеству выявленных плазмоцитов: 1 степень – до 5 клеток, 2 степень – до 20 клеток, 3 степень – более 20 клеток в 10 полях зрения при увеличении 400 [79].

Особую озабоченность вызывает стремление ряда специалистов основывать верификацию ХЭ на оценке только одного маркера плазматических клеток (CD138+), как «золотого стандарта», что категорически недопустимо. Плазматические клетки могут не идентифицироваться при иммуногистохимическом исследовании вследствие нарушения и незавершенности В-бластической трансформации В-лимфоцитов (CD20+) – предшественников плазмоцитов (CD 138+), при этом клиническая картина (данные УЗИ-исследования, данные полученные при гистероскопии, результаты микробиологического исследования) свидетельствуют о наличии воспалительного процесса в полости матки. Результаты гистологического исследования биоптата выявляют фиброз стромального компонента и склероз сосудистого русла, наличие мононуклеарных инфильтратов, а при иммуногистохимическом исследовании плазмоциты (CD138+) не выявляются и хронический эндометрит ошибочно не верифицируется. Полученные результаты морфологического исследования в такой ситуации являются необоснованными клинико-морфологическими коллизиями вследствие некорректного подхода к оценке патогенетических механизмов развития и течения хронического воспалительного процесса.

Результаты наших многолетних исследований с применением различных методов морфологической диагностики биоптатов эндометрия позволили подобрать комбинацию провоспалительных маркеров для верификации хронического эндометрита CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD20+ (В-лимфоциты), CD4+ (Т-хелперы) и CD138+ (плазмоциты). Подбор единой панели антител для диагностики хронического эндометрита без потери диагностической ценности вне зависимости от фазы цикла позволит унифицировать полученные результаты и устранить разноречивость трактовки.

Выбор данной комбинации антител обусловлен тем, что CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты) верифицируют клетки, зараженные вирусами или внутриклеточными патогенами; В-лимфоциты (CD20+) играют важную роль в диагностике хронического эндометрита и обострении хронического воспалительного процесса в эндометрии бактериальной этиологии; Т-хелперы (CD4+) осуществляют функцию стимулятора иммунного ответа, имеют обратную связь с количеством CD8+;

плазмоциты (синдекан 1, CD138+) преобразуются из В-лимфоцитов при длительном течении хронического воспалительного процесса в ответ на стимуляцию этиологическим фактором.

На основании подобранной комбинации провоспалительных маркеров нами были разработаны и внедрены в клиническую практику иммуногистохимические критерии степени выраженности хронического эндометрита. Двукратное увеличение каждого маркера из комбинации (CD8+, CD20+, CD4+, CD138+) отражает наличие слабо выраженного хронического эндометрита, 3-х кратное увеличение каждого из маркеров – умеренно выраженного, 5-ти и более кратное увеличение указывает на наличие выраженного хронического эндометрита. Разработанные критерии диагностики степени выраженности хронического эндометрита с применением комплексной комбинации маркеров (CD8+, CD20+, CD4+, CD138+) имеют высокую диагностическую значимость в разные фазы менструального цикла без потери информативности и позволяют верифицировать этиологические факторы хронического эндометрита (вирусные, бактериальные) [80].

Обобщение многолетних результатов нашей работы, которые охватывают на данном этапе более 25 тысяч исследований биоптатов эндометрия, анализ данных отечественной и зарубежной литературы позволяют констатировать, что хронический воспалительный процесс в полости матки служит причиной развития каскада патологических реакций во всех структурных компонентах эндометрия. Изменение баланса цитокинов в эндометрии ведет к стимуляции фиброгенеза и склерозу сосудов эндометрия, нарастающая гипоксия ткани ведет к патологической активации неогенеза и по совокупности патологий формируют эндометриальную дисфункцию.

По совокупности комплексного морфологического исследования эндометрия в зависимости от повреждения гистогенетических структур (железы стромы, сосуды) у пациенток с хроническим эндометритом можно условно разделить на 3 варианта прогноза реализации репродуктивного потенциала (А, В, С):

I вариант (А) – гистологическая картина соответствует дням фазы менструального цикла, когда была произведена биопсия эндометрия, верифицируется мононуклеарная инфильтрация стромы. Методом иммуногистохимического исследования экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона в обеих гистогенетических структурах (железах и стромальном компоненте) соответствует морфологической картине; выявляются признаки слабо выраженного хронического эндометрита с 2-3 кратным увеличением количества иммункомпонентных клеток (CD8+, CD20+, CD4+, CD138+). Результаты ретроспективного анализа свидетельствуют, что данный вариант является самым бла-

гоприятным с клинической точки зрения. Вклад эндометриального фактора в патогенез бесплодия, невынашивания беременности, репродуктивных потерь и неэффективных циклов ВРТ минимален.

II вариант (B) – гистологическая картина соответствует дням фазы менструального цикла или варьирует в пределах одной стадии, отмечается мононуклеарная инфильтрация с формированием крупноочаговых скоплений и/или фолликулоподобных инфильтратов, фибропластические изменения и/или очаговый фиброз стромального компонента. Методом иммуногистохимического исследования экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах соответствует морфологической картине, в стромальном компоненте снижена; верифицируется умеренно выраженный и/или выраженный хронический эндометрит с 3-4 кратным увеличением количества иммунокомпетентных клеток (CD8+, CD20+, CD4+, CD138+). Вклад эндометриального фактора является существенным и требует внимания со стороны клиницистов.

III вариант (C) – гистологическая картина вариabельна, отмечается мононуклеарная инфильтрация с формированием крупноочаговых скоплений и/или фолликулоподобных инфильтратов, фибропластические изменения и/или фиброз стромального компонента, склероз сосудов. Методом иммуногистохимического исследования экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона в железах зависит от трансформации (пролиферативный, диссоциативный, секреторный эндометрий), в стромальном компоненте экспрессия маркеров снижена. Верифицируется выраженный хронический эндометрит с 5-ти и более кратным увеличением количества иммунокомпетентных клеток (CD8+, CD20+, CD4+, CD138+).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хронический эндометрит является клинко-морфологическим диагнозом, однако исто-

рические и современные аспекты его изучения, большое количество публикаций по данной проблеме свидетельствуют о неоднозначных представлениях и диагностических подходах со стороны акушеров-гинекологов и патологоанатомов. Более чем вековая дискуссия о значимости воспалительных изменений в эндометрии у пациенток с патологией репродуктивной функции не закончена и на сегодняшний день. Использование гистологического метода исследования, как основного и общедоступного метода диагностики состояния эндометрия не всегда позволяет верифицировать ХЭ, что диктует необходимость и целесообразность применения высокотехнологичных методов для подтверждения и уточнения степени выраженности патологического процесса.

Единый алгоритм диагностики ХЭ у пациенток с бесплодием, невынашиванием беременности, неэффективными циклами ВРТ с использованием гистологического исследования, как базового параметра оценки эндометрия, иммуногистохимического исследования, иммунофлуоресцентного исследования позволяет верифицировать нарушение морфофункционального состояния эндометрия, а также последствия влияния ХЭ на стероидогенез (рецепторный профиль), иммуногенез (иммунный профиль), ангиогенез и фиброгенез. Эндометриальный фактор является одной из главных детерминант нарушения имплантации, плацентации, неэффективных циклов ВРТ, требует тщательного и всестороннего подхода оценке морфофункционального состояния эндометрия. Квалифицированный подход к морфологической диагностике состояния эндометрия, стандартизация диагностики ХЭ, грамотная интерпретация данных иммуногистохимического исследования позволяют подобрать патогенетически обоснованную терапию, нацеленную на реабилитацию репродуктивной функции.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Траль Т.Г., Толибова Г.Х. Морфологические и иммуногистохимические особенности неразвивающейся беременности I триместра. Журнал акушерства и женских болезней 2014;63(4):60–68.
Tral TG, Tolibova GH. Morphological and immunohistochemical especially of stilled pregnancy the first trimester. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases* 2014;63(4):60–68. (In Russ.).
2. Доброхотова Ю.Э., Доброхотова Ю.Э., Бондаренко К.Р. с соавт. Современные представления о воспалительных заболеваниях органов малого таза: обзор литературы. Гинекология 2016;3:4–8.
DobrokhotovaYuE, DobrokhotovaYuE, Bondarenko KR et al. Current view on pelvic inflammatory diseases: a literature review. *Gynecology* 2016;3:4–8. (In Russ.).
3. Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I et al. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218(6):602.e1–602.e16. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.02.012>.
4. Craciunas L, Gallos I, Chu J et al. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2019 Mar 1;25(2):202–223. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmy044>.
5. Alfer J, Fattahi A, Bleisinger N et al. Endometrial dating method detects individual maturation sequences during the secretory phase. *In Vivo* 2020;34(4):1951–1963. <https://doi.org/10.21873/invivo.11992>.
6. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Клещев М.А. Эндометриальная дисфункция: алгоритм клинко-морфологического исследования. Учебное пособие для врачей. СПб; 2016. 44 с.
Tolibova G.H., Tral T.G., Kleshchev M.A. Endometrial dysfunction: algorithm of clinical and morphological research. Tutorial for

doctors. St. Petersburg; 2016. 44 p. (In Russ.).

7. Радзинский В.Е., Петров Ю.А., Полина М.Л. Хронический эндометрит: Современные аспекты. Кубанский научный медицинский вестник 2017;24(5):69-74. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74>.

Radzinsky VE, Petrov YuA, Polina ML. Chronic endometritis: Modern aspects. *Kuban Scientific Medical Bulletin = Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik* 2017;24(5):69-74. (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-5-69-74>.

8. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G et al. Chronic endometritis effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol* 2018;79(1). <https://doi.org/10.1111/aji.12782>.

9. Liu Y, Chen X, Huang J et al. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure. *Fertil Steril* 2018;109:832-839. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.022>.

10. Sahasrabudhe N, Mobasseri M, Reznik SE et al. Chronic Endometritis and Recurrent Pregnancy Loss. *Curr Obstet Gynecol Rep* 2017;6:55-61. <https://doi.org/10.1007/s13669-017-0189-z>.

11. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2019;45:951-960. <https://doi.org/10.1111/jog.13937>.

12. Оздоева И.М.-Б., Петров Ю.А. Хронический эндометрит: Изменения основных звеньев иммунитета. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований 2020(4):26-30.

Ozdoeva IM-B, Petrov YuA. Chronic endometritis: Changes in the main links of immunity. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2020(4):26-30. (In Russ.).

13. Гасанова Б.М., Полина М.Л., Дуглас Н.И. Рациональные методы диагностики типов хронического эндометрита после прерывания беременности у женщин с хроническим пиелонефритом и анемией. Якутский медицинский журнал 2019(1):42. <https://doi.org/10.25789/YMJ.2019.65.13>.

Hasanova BM, Polina ML, Douglas NI. Rational methods of diagnosis of types of chronic endometritis after termination of pregnancy in women with chronic pyelonephritis and anemia. *Yakut Medical Journal* 2019(1):42. (In Russ.). <https://doi.org/10.25789/YMJ.2019.65.13>.

14. Margulies SL, Dhingra I, Flores V et al. The diagnostic criteria for chronic endometritis: a survey of pathologists. *Int J Gynecol Pathol* 2021;40(6):556-562. <https://doi.org/10.1097/PGP.0000000000000737>.

15. Margulies SL, Flores V, Parkash V et al. Chronic endometritis: A prevalent yet poorly understood entity. *Int J Gynaecol Obstet* 2022;158(1):194-200. <https://doi.org/10.1002/ijgo.13962>.

16. Lax SF. Endometritis: Rare disease with clinical importance? *Pathologie* 2016;37(6):521-525. <https://doi.org/10.1007/s00292-016-0237-x>.

17. Tissier H, Carre G, Naud C. Recherches sur la Flore Intestinale des Nourrissons (e'tat Normal et Pathologique). Paris, 1900.

18. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front Immunol* 2018;9:208. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00208>.

19. Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л., Мирошниченко Л.Е. с соавт. Эндометриальная дисфункция у женщин с миомой матки, ассоциированной с хроническими воспалительными заболеваниями матки и придатков и бесплодием. Уральский медицинский журнал 2016;5:16-21.

Voropaeva EE, Kazachkov EL, Miroshnichenko LE et al. Endothelial dysfunction in women with uterine fibroids associated with chronic inflammatory diseases of the uterus and appendages and infertility. *Ural Medical Journal* 2016;5:16-21. (In Russ.).

20. Манухин И.Б., Семенцова Н.А., Митрофанова Ю.Ю. с соавт. Хронический эндометрит и невынашивание беременности. Медицинский совет 2018;7:46-49. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-7-46-49>.

Manukhin IB, Sementsova NA, Mitrofanova YuYu et al. Chronic endometritis and miscarriage. *Medical advice = Medicinskij sovet* 2018;7:46-49. (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-7-46-49>.

21. Михалева Л.М., Болтовская М.Н., Михалев С.А. с соавт. Клинико-морфологические аспекты эндометриальной дисфункции, обусловленной хроническим эндометритом. Архив патологии 2017;79(6):22-29. <https://doi.org/10.17116/patol201779622-29>.

Mikhaleva LM, Boltovskaya MN, Mikhalev SA et al. Clinical and morphological aspects of endometrial dysfunction caused by chronic endometritis. *Archive of pathology = Arhiv patologii* 2017;79(6):22-29. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol201779622-29>.

22. Park HJ, Kim YS, Yoon TK et al. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med* 2016;43(4):185-192. <https://doi.org/10.5653/cerm.2016.43.4.185>.

23. Козырева Е.В., Давидян Л.Ю., Кометова В.В. Хронический эндометрит в аспекте бесплодия и невынашивания беременности. Ульяновский медико-биологический журнал 2017;2(26):56-63. <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.26.6218>.

Kozyreva EV, Davidyan LYu, Kochetova VV. Chronic endometritis in the aspect of infertility and miscarriage. *Ulyanovsk Medical and Biological Journal = Ul'janovskij mediko-biologicheskij zhurnal* 2017; 2(26): 56-63. (In Russ.). <https://doi.org/10.23648/UMBJ.2017.26.6218>.

24. Puente E, Alonso L, Laganà AS et al. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges. *Int J Fertil Steril* 2020;13(4):250-256. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2020.5779>.

25. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R et al. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril* 2021;115:546-560. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.12.010>.

26. Амриева Д.Х., Петров Ю.А. Хронический эндометрит: патогенетические аспекты. Вестник ДГМА 2019;4(33):59-63. Amrieva DH, Petrov YuA. Chronic endometritis: pathogenetic aspects. *Bulletin of the DSMA = Vestnik DGMA* 2019;4(33):59-63. (In Russ.).

27. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Скальная В.С. с соавт. Хронический эндометрит: состояние изученности проблемы. Гинекология 2019(5):49-52. <https://doi.org/10.26442/20795696.2019.5.190735>.
Dobrokhotova YuE, Borovkova EI, Skalnaya VS et al. Chronic endometritis: the state of knowledge of the problem. *Gynecology* 2019(5):49-52. (In Russ.). <https://doi.org/10.26442/20795696.2019.5.190735>.
28. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Волкова С.В. с соавт. Хронический эндометрит у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Гинекология 2020;22(3):15-20. <https://doi.org/10.26442/20795696.2020.3.200174>.
Orazov MR, Radzinsky VE, Volkova SV et al. Chronic endometritis in women with endometriosis-associated infertility. *Gynecology* 2020;22(3):15-20. (In Russ.). <https://doi.org/10.26442/20795696.2020.3.200174>.
29. Vallvé-Juanico J, Houshdaran S, Giudice LC. The endometrial immune environment of women with endometriosis. *Hum Reprod Update* 2019;25:564-591. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz018>.
30. Kitazawa J, Kimura F, Nakamura A et al. Endometrial immunity for embryo implantation and pregnancy establishment. *Tohoku J Exp Med* 2020;250(1):49-60. <https://doi.org/10.1620/tjem.250.49>.
31. Patel BG, Rudnicki M, Yu J et al. Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017;96:623-632. <https://doi.org/10.1111/aorc.13156>.
32. Inoue T, Moran I, Shinnakasu R et al. Generation of memory B cells and their reactivation. *Immunol Rev* 2018;283:138-149. <https://doi.org/10.1111/imr.12640>.
33. Hoyer BF, Radbruch A. Protective and pathogenic memoryplasma cells. *Immunol Lett* 2017;189:10-12. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.04.014>.
34. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M et al. Review: chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2019;45:951-960. <https://doi.org/10.1111/jog.13937>.
35. Lee SK, Kim CJ, Kim DJ et al. Immune cells in the female reproductive tract. *Immune Netw* 2015;15:16-26. <https://doi.org/10.4110/in.2015.15.1.16>.
36. Marci R, Gentili V, Bortolotti D et al. Presence of HHV-6A in endometrial epithelial cells from women with primary unexplained infertility. *PLoS One* 2016;11(7):e0158304. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158304>.
37. Van Egmond A, Van Der Keur C, Swings GMJS et al. The Possible Role of Virus-Specific CD8 + Memory T Cells in Decidual Tissue. *J Reprod Immunol* 2016;113:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.09.073>.
38. Faubert B, Li KY, Cai L et al. Lactate metabolism in human lung tumors. *Cell* 2017;171(2):358-371.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.019>.
39. Liu G, Summer R. Cellular metabolism in lung health and disease. *Annu Rev Physiol* 2019;81:403-428. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114640>.
40. Украинец Р.В., Корнева Ю.С., Доросевич А.Е. Макрофаг – центральное звено коммуникационной системы ткани эндометрия. Журнал анатомии и гистопатологии 2019;8(4):74-80.
Ukrainets RV, Korneva YS, Dorosevich AE. Macrophage is the central link of the endometrial tissue communication system. *Journal of Anatomy and Histopathology = Zhurnal anatomii i gistopatologii* 2019;8(4):74-80. (In Russ.).
41. Qian LW, Fourcaudot AB, Yamane K et al. Exacerbated and prolonged inflammation impairs wound healing and increases scarring. *Wound Repair Regen* 2016;24(1):26-34. <https://doi.org/10.1111/wrr.12381>.
42. Zhu HY, Ge TX, Pan YB et al. Advanced role of hippo signaling in endometrial fibrosis: implications for intrauterine adhesion. *Chin Med J (Engl)* 2017;130:2732-2737. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.218013>.
43. Vannella KM, Wynn TA. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annu Rev Physiol* 2017;79:593-617. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034356>.
44. Траль ТГ, Толибова Г.Х., Сердюков С.В., Полякова В.О. Морфофункциональная оценка причин замершей беременности в первом триместре. Журнал акушерства и женских болезней 2013;LXII(3):83-87.
Tral TG, Tolibova GX, Serdyukov SV, Polyakova VO. Morphofunctional assessment of the causes of frozen pregnancy in the first trimester. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases = Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej* 2013;LXII(3):83-87. (In Russ.).
45. Wu D, Kimura F, Zheng L et al. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod Biol Endocrinol* 2017;15:16. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0233-x>.
46. Замаховская Л.Ю., Рудакова Е.Б., Трубникова О.Б. Факторы риска и профилактика ранних потерь беременности после экстракорпорального оплодотворения. Медицинский совет 2016;12:88-94. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-12-88-94>.
Zamakhovskaya LYu, Rudakova EB, Trubnikova OB. Risk factors and prevention of early pregnancy losses after in vitro fertilization. *Medical advice = Medicinskij sovet* 2016;12:88-94. (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-12-88-94>.
47. Liu X, Li J, Cai B et al. Endometrial expression of telomerase, progesterone, and estrogen receptors during the implantation window in patients with recurrent implantation failure. *Genet Mol Res* 2016;15:49. <https://doi.org/10.4238/gmr.15027849>.
48. Vagnini LD, Renzi A, Petersen B et al. Association between estrogen receptor 1 (ESR1) and leukemia inhibitory factor (LIF) polymorphisms can help in the prediction of recurrent implantation failure. *Fertil Steril* 2019;111:527-534. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.11.016>.
49. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E et al. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril* 2016;105:106-610. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.025>.
50. Лучко Е.В., Штабинская Т.Т., Зубрицкий М.Г. с соавт. Особенности децидуализации стромы эндометрия при невынашивании беременности ранних сроков. Журнал Гродненского государственного медицинского университета 2018;16(6):702-705. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2018-16-6-702-705>.
Luchko EV, Shtabinskaya TT, Zubritskiy MG et al. Features of decidualization of the endometrial stroma in miscarriage of early pregnancy. *Journal of Grodno State Medical University = Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*

- 2018;16(6):702–705. (In Russ.). <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2018-16-6-702-705>.
51. Исмаилова Ф.К., Петров Ю.А. Современные взгляды на этиологию хронического эндометрита. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2020;5:68–72.
- Ismailova FK, Petrov YuA. Modern views on the etiology of chronic endometritis. *International Journal of Applied and Fundamental Research = Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij* 2020;5:68–72. (In Russ.).
52. Luncan M, Huniadi A, Bimbo-Szuhai E et al. The effectiveness of intrauterine antibiotic infusion versus oral antibiotic therapy in the treatment of chronic endometritis in patients during IVF (in vitro fertilization) procedures. *BMC Womens Health* 2022;22(1):529. <https://doi.org/10.1186/s12905-022-02128-8>.
53. Дикке Г.Б. Полимикробные ассоциации в этиологии воспалительных заболеваний половых органов у женщин. *Акушерство и гинекология* 2017;6:151–158. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.6.151-8>.
- Dicke GB. Polymicrobial associations in the etiology of inflammatory genital diseases in women. *Obstetrics and Gynecology = Akusherstvo i ginekologija* 2017;6:151–158. (In Russ.). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.6.151-8>.
54. Revzin MV, Mathur M, Dave HB et al. Pelvic inflammatory disease: multimodality imaging approach with clinical-pathologic correlation. *RadioGraphics* 2016;36(5):1579–1596. <https://doi.org/10.1148/rg.2016150202>.
55. Тапильская Н.И., Будиловская О.В., Крысанова А.А. и соавт. Микробиота эндометрия женщин с хроническим эндометритом и идиопатическим бесплодием. *Акушерство и гинекология*. 2020;4:72–81. <https://doi.org/10.18565/aig.2020.4.72-81>.
- Tapilskaya NI, Budilovskaya OV, Krysanova AA et al. Microbiota of the endometrium of women with chronic endometritis and idiopathic infertility. *Obstetrics and gynecology = Akusherstvo i ginekologija* 2020;4:72–81. (In Russ.). <https://doi.org/10.18565/aig.2020.4.72-81>.
56. Chen W, Wei K, He X et al. Identification of uterine microbiota in infertile women receiving in vitro fertilization with and without chronic endometritis. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:693267. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.693267>.
57. Дикке Г.Б., Суханов А.А., Кукарская И.И., Остроменский В.В. Цитокиновый профиль пациенток с хроническим эндометритом и нарушением репродуктивной функции. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии* 2021;20(6):82–91. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2021-6-82-91>
- Dikke GB, Sukhanov AA, Kukarskaya II, Ostromensky VV. Cytokine profile of patients with chronic endometritis and reproductive dysfunction. *Questions of gynecology, obstetrics and perinatology = Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii* 2021;20(6):82–91. (In Russ.). <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2021-6-82-91>.
58. Куст А.В., Козелкова Е.В., Садыгова А.В. с соавт. Батрак Н.В. Инфекционный статус у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности в анамнезе. *Российский иммунологический журнал* 2019;22(2–1):362–364. <https://doi.org/10.31857/S102872210006628-5>.
- Kust AV, Kozelkova EV, Sadykova AV et al. Batrak N.V. Infectious status in women with a history of threatened abortion and habitual miscarriage. *Russian Immunological Journal = Rossijskij immunologicheskij zhurnal* 2019;22(2–1):362–364. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S102872210006628-5>.
59. Григушкина Е.В., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю. и соавт. Патогенетические аспекты привычного невынашивания беременности. *Вестник ИвГМА* 2021;2:30–36.
- Gribushkina EV, Malysheva AI, Sotnikova NYu et al. Pathogenetic aspects of habitual miscarriage. *IvSMA Bulletin = Vestnik IvGMA* 2021;2:30–36. (In Russ.).
60. Hayden NZ. Modern management of recurrent miscarriage. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 2019;59:36–44. <https://doi.org/10.1111/ajo.12920>.
61. European Society of Human Reproduction and Embryology. Recurrent Pregnancy Loss: Group E.E.P.G.D., 2017. 153 p.
62. Воропаева Е.Е., Казачков Е.Л. Казачкова Э.А. Хронический эндометрит: клиничко-морфологические аспекты диагностики : учебное пособие. Челябинск, 2022. С. 60–63.
- Voropaeva EE, Kazachkov EL, Kazachkova EA. Chronic endometritis: clinical and morphological aspects of diagnosis. Chelyabinsk, 2022. pp. 60–63. (In Russ.).
63. Воронова Ю.В. Дисбиоз влагалища: современные аспекты диагностики и лечения. *Дальневосточный медицинский журнал* 2014;2:35–40.
- Voronova YuV. Vaginal dysbiosis: modern aspects of diagnosis and treatment. *Far Eastern Medical Journal = Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal* 2014;2:35–40. (In Russ.).
64. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Скальная В.С. с соавт. Хронический эндометрит: состояние изученности проблемы. *Гинекология* 2019(5):49–52. <https://doi.org/10.26442/20795696.2019.5.190735>.
- Dobrokhotova YuE, Borovkova EI, Skalnaya VS et al. Chronic endometritis: the state of knowledge of the problem. *Gynecology* 2019(5):49–52. (In Russ.). <https://doi.org/10.26442/20795696.2019.5.190735>.
65. Плужникова Т.А., Михнина Е.А., Давыдова Н.И. с соавт. Опыт применения иммуноглобулина для внутривенного введения у беременных с невынашиванием и хроническим эндометритом. *Журнал акушерства и женских болезней* 2018;5:21–31. <https://doi.org/10.17816/JOWD67521-31>.
- Pluzhnikova TA, Mikhnikova EA, Davydova NI et al. The experience of using immunoglobulin for intravenous administration in pregnant women with miscarriage and chronic endometritis. *Journal of Obstetrics and Gynecology = Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej* 2018;5:21–31. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/JOWD67521-31>.
66. Danusevich IN, Lazareva LM, Nemchenko UM. Endometrial cytokines in women with reproductive disorders. *International Journal of Biomedicine* 2021;11(4):526–531. [http://www.ijbm.org/articles/i44/ijbm_11\(4\)_oa20.pdf](http://www.ijbm.org/articles/i44/ijbm_11(4)_oa20.pdf).
67. Крутова В.А., Чулкова А.М., Ванян Д.Л. с соавт. Неoadъювантная диагностика и лечение хронического эндометрита. *Кубанский научный медицинский вестник* 2018;25(1):23–29. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-1-23-29>.

- Krutova VA, Chulkova AM, Vanyan DL et al. Neoadjuvant diagnosis and treatment of chronic endometritis. *Kuban Scientific Medical Bulletin = Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik* 2018;25(1):23–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2018-25-1-23-29>.
68. Puente E, Alonso L, Laganà AS et al. Chronic Endometritis: Old Problem, Novel Insights and Future Challenges. *Int J Fertil Steril* 2020;13(4):250–256. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2020.5779>.
69. Zargar M, Ghafourian M, Nikbakht R et al. Evaluating chronic endometritis in women with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss by hysteroscopy and immunohistochemistry. *J Minim Invasive Gynecol* 2020;27(1):116–121. <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2019.02.016>.
70. Тапильская Н.И., Толибова Г.Х., Обедкова К.В. с соавт. Алгоритм диагностики и лечения хронического эндометрита. *Акушерство и гинекология* 2022;3(прил):16–26.
- Tapilskaya NI, Tolibova GH, Obedkova KV et al. Algorithm of diagnosis and treatment of chronic endometritis. *Obstetrics and gynecology = Akusherstvo i ginekologija* 2022;3(adj.):16–26. (In Russ.).
71. Moser G, Huppertz B. Implantation and extravillous trophoblast invasion: From rare archival specimens to modern biobanking. *Placenta* 2017;56:19–26. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2017.02.007>.
72. Brighton PJ, Maruyama Y, Fishwick K et al. Clearance of senescent decidual cells by uterine natural killer cells in cycling human endometrium. *Elife* 2017;6:e31274. <https://doi.org/10.7554/eLife.31274>.
73. Неразвивающаяся беременность: методические рекомендации МАРС (Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины). ред. Радзинский В.Е. М. : Редакция журнала Status Praesens; 2015. 48 с.
- Undeveloped pregnancy: methodological recommendations of MARS (Interdisciplinary Association of Specialists in Reproductive Medicine). edit. Radzinsky VE. M. : Editorial office of the journal Status Praesens; 2015. 48 p. (In Russ.).
74. Рыкова О.В. Недостаточность лютеиновой фазы: лабораторные аспекты диагностики. *Репродуктивная медицина* 2016;27(1):75–79.
- Rykova OV. Insufficiency of the luteal phase: laboratory aspects of diagnosis. *Reproductive medicine = Reproductivnaja medicina* 2016;27(1):75–79. (In Russ.).
75. Brighton PJ, Maruyama Y, Fishwick K et al. Clearance of senescent decidual cells by uterine natural killer cells in cycling human endometrium. *Elife* 2017;6:e31274. <https://doi.org/10.7554/eLife.31274>.
76. Кондриков Н.И., Баранова И.В. Патология матки: руководство для врачей, 2-е изд. М. : Практическая медицина; 2019. С. 219–222.
- Kondrikov NI, Baranova IV. Pathology of the uterus: a guide for doctors, 2nd ed. M.: Practical medicine; 2019. pp. 219–222. (In Russ.).
77. Hviid Saxtorph M, Persson G, Hallager T et al. Are different markers of endometrial receptivity telling us different things about endometrial function? *Am J Reprod Immunol* 2020;84(6):e13323. <https://doi.org/10.1111/aji.13323>.
78. Kitaya K, Yasuo T. Immunohistochemical and linicopathological characterization of chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol* 2011;66:410–415. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x>.
79. Kaku S, Kubo T, Kimura F et al. Relationship of chronic endometritis with chronic deciduitis in cases of miscarriage. *BMC Womens Health* 2020;20(1):114. <https://doi.org/10.1186/s12905-020-00982-y>.
80. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Коган И.Ю., Олина А.А. Эндометрий. Атлас. М. : ООО Медиа Бюро Статус Презенс; 2022. глава 6, С. 85–106.
- Tolibova GH, Tral TG, Kogan IYu, Olina AA. Endometrium. Atlas. M. : LLC Media Bureau Status Presents; 2022. pp. 85–106.

Сведения об авторах:

Г.Х. Толибова – доктор медицинских наук, доцент;

Т.Г. Траль – кандидат медицинских наук, доцент.

Information about the authors:

G.Kh. Tolibova – Doctor of Science (Medicine), Associate Professor;

T.G. Tral – PhD in medicine, Associate Professor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**Conflicts of interests** The authors declare no conflicts of interests.**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.**Funding source** The authors state that there is no external funding for the study.**Этическая экспертиза не требуется.****Ethics approval** is not required.**Информированное согласие не требуется.****Informed consent** is not required.

Статья поступила в редакцию 23.01.2023; одобрена после рецензирования 02.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 23.01.2023; approved after reviewing 02.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ СЕПСИСА В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Генриетта Герхардовна Фрейнд¹, Анастасия Александровна Булдакова²

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

¹ gfreynd@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2861-4878>

² gantsek@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8609-7960>

Аннотация

Введение. На протяжении последних 30 лет сепсис по-прежнему остается актуальной мультидисциплинарной проблемой современной медицины, что обусловлено неуклонным ростом заболеваемости и стабильно высокой летальностью. Пациенты онкологических стационаров имеют высокую предрасположенность к развитию сепсиса как в послеоперационном периоде, так и в отделениях химио- и лучевой терапии. Представляют интерес не только клиничко-лабораторная диагностика сепсиса у данной категории больных, но и характеристика его морфологической картины в зависимости от вида лечения. Наибольшие сложности возникают при исследовании аутопсий после противоопухолевой химиотерапии, обуславливающей вторичный иммунодефицит и ассоциированные с ним осложнения. Сепсис у данной категории больных характеризуется отсутствием классической морфологической картины. Применение современных антибактериальных препаратов и проведение патогенетической терапии сепсиса также обуславливает его патоморфоз, что значительно затрудняет диагностику. Цель исследования – систематизация данных литературы и опубликованных результатов собственных исследований об особенностях морфологических проявлений сепсиса при онкологической патологии в зависимости от проведенного лечения. **Материалы и методы.** Поиск и отбор литературных источников проводился в системах PubMed, GoogleScholar, электронной библиотеке elibrary.ru, глубина поиска – 30 лет. Результаты и обсуждение. Сепсис у онкологических больных после хирургических вмешательств характеризуется гиперэргическим типом тканевых реакций с гиперплазией лимфоидной и миелоидной ткани и классическими проявлениями септикопиемии с различной степенью выраженности гнойного метастатического процесса: от макроскопически различимых абсцессов до мини-очагов гнойного воспаления. На фоне антибиотикотерапии отмечается патоморфоз сепсиса с преобладанием расстройств микроциркуляции и значительно менее выраженными проявлениями гнойного воспаления в метастатических очагах в виде мелких скоплений нейтрофильных гранулоцитов и лейкоцитарных стазов в сосудах. У пациентов после химиотерапии, сопровождающейся лейкопенией и агранулоцитозом, отмечается угнетение миело- и лимфопоэза, а во внутренних органах при сепсисе наряду с расстройствами микроциркуляции обнаруживаются очаги некроза и тяжелые дистрофические изменения в очагах скоплений микроорганизмов с отсутствием нейтрофилов в составе крайне скудного воспалительного инфильтрата. **Заключение.** Сепсис у онкологических больных с патогенетических позиций неоднороден, в зависимости от особенностей организма и вида лечения его следует подразделять на гипер- и анэргический. Диагноз сепсиса является клиничко-морфологическим, что требует не только использования клиничко-лабораторных шкал диагностики, но и определения критериев морфологической диагностики при различных его патогенетических вариантах.

Ключевые слова: инфекция, патогенез, онкология, сепсис, консенсус, морфология, патоморфоз.

Для цитирования: Фрейнд Г.Г., Булдакова А.А. Патогенетические варианты сепсиса в онкологической практике. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):153-161. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-153-161>.

PATHOGENETIC VARIANTS OF SEPSIS IN ONCOLOGY PRACTICE

Genrietta G. Freynd¹, Anastasia A. Buldakova²

E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

¹gfreynd@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2861-4878>²gantsek@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8609-7960>**Abstract**

Introduction Over the past 30 years, sepsis has been an urgent interdisciplinary problem of modern medicine due to the increase in morbidity and a consistently high mortality rate. Patients of oncological hospitals have a high predisposition to the development of sepsis, both in the postoperative period and in the departments of chemo and radiation therapy. In addition, sepsis may be a complication of the postoperative period in patients undergoing surgical treatment. Of interest is not only the clinical and laboratory diagnosis of sepsis in this category of patients, but also the features of its morphological picture, due to uniform diagnostic criteria. The greatest difficulties arise in the study of autopsies, after antitumor chemotherapy, which causes a secondary immunodeficiency condition characterized by the absence of a classical morphological picture of sepsis. The use of modern antibacterial drugs, as well as pathogenetic therapy of sepsis also leads to its pathomorphosis, which also complicates diagnosis. **The aim of the study** is to systematize the literature data and the results of our own research on the features of morphological manifestations of sepsis in oncological pathology, depending on cancer treatment. **Material and methods** The search and selection of literary sources was carried out in PubMed, GoogleScholar, electronic library systems elibrary.ru, the search depth is 30 years. **Results and Discussion** Sepsis in cancer patients after surgical interventions is characterized by hyperergic type of tissue reactions with hyperplasia of lymphoid and myeloid tissue and classic manifestations of septicopyemia of varying severity of purulent metastatic process: from macroscopically distinguishable abscesses to mini-foci of purulent inflammation. Against the background of antibiotic therapy, there is a pathomorphosis of sepsis with a predominance of microcirculation disorders and small focal ulcers. In patients after chemotherapy, accompanied by leukopenia and agranulocytosis, with sepsis, hypoplasia of myeloid and lymphoid tissue is noted, and in the internal organs, along with microcirculation disorders, foci of necrosis, severe dystrophic changes with the absence of neutrophil infiltration are found. **Conclusion** Sepsis in cancer patients from pathogenetic positions is heterogeneous, depending on the characteristics of the body and the nature of treatment, it should be divided into hyper- and anergic. The diagnosis of sepsis is clinico-morphological, which requires not only the use of clinical and laboratory diagnostic scales, but also the definition of criteria for morphological diagnosis.

Key words: infection, pathogenesis, oncology, sepsis, consensus, morphology, pathomorphosis.

For citation:

Freynd GG, Buldakova AA. Pathogenetic variants of sepsis in oncology practice. Ural medical journal 2023;22(2):153-161. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-153-161>

ВВЕДЕНИЕ

Сепсис в XXI веке по-прежнему остаётся одной из самых актуальных мультидисциплинарных проблем современной медицины ввиду неуклонной тенденции к росту заболеваемости и стабильно высокой летальности – от 26 до 35% в высокоразвитых странах до 60–80% в странах с низким уровнем здравоохранения. В докладе ВОЗ отмечено, что сепсис – это «глобальное бремя» с 49 миллионами больных в год, из которых 11 миллионов умирают [1].

Единая статистическая база по сепсису в Российской Федерации по-прежнему отсутствует, поэтому никто не может привести точные данные о количестве летальных исходов при сепсисе. Согласно результатам локальных ретроспективных

исследований, частота сепсиса в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) в разных субъектах РФ составляет от 14,7 до 34,97 случаев на 100 пациентов. Около 50% всех случаев приходится на нозокомиальный сепсис, имеющий наиболее высокий процент летальности. На фоне проводимого лечения летальность в хирургических отделениях и ОРИТ оценивается на уровне 42-50%, без лечения достигает 100% [2, 3, 4].

Современная отечественная медицинская практика свидетельствует о проблемах диагностики сепсиса клиницистами и трудностях диагностики патологоанатомами ввиду недостаточно разработанных морфологических критериев системной воспалительной реакции и повреждений отдельных органов при полиорганной недостаточности,

за исключением септического шока. Ряд исследований отражает поиск клинико-морфологических параллелей при различных проявлениях полиорганной недостаточности, проводятся сопоставления между структурными изменениями и клиническими проявлениями дисфункции органов, устанавливается связь клинических и морфологических проявлений с характером выявленной микрофлоры. Однако проблема диагностики сепсиса в практической деятельности остается предметом постоянной дискуссии между клиницистами и патологоанатомами [5–7].

Цель исследования – систематизация данных литературы и опубликованных результатов собственных исследований об особенностях морфологических проявлений сепсиса при онкологической патологии в зависимости от проведенного лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск и отбор актуальных литературных источников проводился в системах PubMed, GoogleScholar, электронной библиотеке eLibrary.ru, а также в российских профильных журналах по патологической анатомии, анестезиологии и реаниматологии, хирургии. Для систематизации литературы использовали следующие ключевые слова: «сепсис», «дефиниции», «консенсус», «синдром системного воспалительного ответа», «синдром полиорганной недостаточности», «онкология», «нейтропения», «sepsis», «consensus», «systemic inflammatory response syndrome», «compensatory anti-inflammatory response syndrome», «cancer», «malignancies», «chemotherapy», «morphology». Использованы оригинальные статьи, систематические обзоры, монографии и руководства. Исключены неопубликованные работы, статьи, текст которых представлен не в полном объеме, отчеты о клинических случаях. По результатам поиска выделено 47 литературных источников, которые соответствовали описанному выше критерию. Большинство использованных источников опубликованы за последние 30 лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эволюция взглядов на природу сепсиса в истории медицины во многом определялась развитием фундаментальных общебиологических представлений о роли инфекционного фактора (Н. Shottmuller, 1914 г.), о взаимоотношениях макро- и микроорганизма, об особенностях реакций организма на повреждение [8]. По мере расшифровки механизмов антиинфекционной защиты и накопления новых научных данных о системном воспалении происходила постепенная трансформация представлений о сути патологического процесса: от ведущей роли инфекционного начала до признания определяющего значения реактивности организма человека [9–11].

Патофизиологические звенья патологического процесса окончательно не расшифрованы и продолжают углубленно изучаться. Ключевую роль в изучении проблемы сепсиса сыграли представления R. Bone и W. Ertel о системном воспалительном ответе (SIRS), которые позволили сформулировать цитокиновую теорию сепсиса [12, 13].

В основе системного воспаления лежит многокомпонентный процесс, приводящий к активации клеток под действием цитокинов. Этот процесс не ограничивается активацией нейтрофилов, моноцитов, эндотелия. На молекулярном уровне под действием микробных факторов, связывающихся с рецепторами, индуцируется транскрипция генов воспалительного и иммунного ответа, что влечет за собой выброс медиаторов и неуправляемый каскад воспалительных реакций с выраженной эндотелиальной дисфункцией, расстройствами микроциркуляции, гиперкоагуляцией, приводящих к повреждению тканей и структурно-функциональным расстройствам в жизненно важных органах [14–18].

В настоящее время сепсис рассматривается с позиции соотношения двух синдромов: SIRS и компенсаторного противовоспалительного синдрома (CARS). Нарушение баланса между этими иммунологическими синдромами, изменение спектра возбудителей, особенности иммунного ответа влияют не только на клинику, но и на морфологические проявления сепсиса [5, 12, 19, 20].

Эволюция представлений о сепсисе отражена в решениях международных согласительных комиссий. Существенные изменения в дефиниции, классификацию и базовые принципы диагностики сепсиса внес консенсус Sepsis-3. Был исключен термин «тяжелый сепсис». В основу новой концепции положены представления о дисфункции органов вследствие дисрегуляторных процессов [5, 12, 21–26]. В настоящее время детально определены и используются в практике клинические и лабораторные критерии оценки патологии органов при сепсисе по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) [27, 28].

Дополнением к классическим диагностическим концепциям, а также критериям, представленным на согласительных конференциях, может служить концепция PIRO, где P (Predisposition) – предрасположенность, I (infection) – локализация, возбудитель инфекции, R (response) – ответ, реакция, O (organ disfunction) – органная дисфункция. Так, наибольшая частота неблагоприятных исходов наблюдается у пожилых пациентов вследствие наличия коморбидных заболеваний, а также у пациентов с иммунодефицитными состояниями при несостоятельности звеньев врожденного и приобретенного иммунитета. Этим объясняется предрасположенность к инфекции и особенности реакции организма на повреждение в различных клинических ситуациях [17, 29–31].

Современный уровень развития генетики и молекулярной биологии позволил подчеркнуть также важную роль генетической детерминации развития сепсиса. Установлено, что процесс взаимодействия микро- и макроорганизма значительно более сложен, чем представлялось ранее. Генетические дефекты CD14, Toll-рецепторов, дефицит системы комплемента, структурно-функциональные нарушения нейтрофилов также предрасполагают к развитию сепсиса [32, 33].

Этиологическая структура возбудителей сепсиса непостоянна, каждые 10–20 лет происходит её эволюция. В 50–60-е годы XX века на смену чувствительным к пенициллину стрептококкам и пневмококкам пришли резистентные и полирезистентные стафилококки. В 70–80-е годы стала преобладать грамотрицательная флора, однако в 90-е годы вновь с высокой частотой стали регистрироваться грамположительные кокки. В настоящее время в роли ведущих этиологических факторов сепсиса выступают условно-патогенные бактерии. К ним относится грамположительная кокковая флора, прежде всего *Staphylococcus aureus*, а также стрептококки, пневмококки, энтерококки, а также грамотрицательная флора – кишечная и синегнойная палочка, *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus*. А.Ф. Билибин характеризовал современный сепсис как «бунт симбионтов» [17, 18, 34].

Этиологическая структура нозокомиального сепсиса представлена *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp (ESKAPE – аббревиатура по первым буквам возбудителей). Среди представленных возбудителей лидирует грамотрицательная флора: *Enterobacteriaceae* – 52,7%; *P. aeruginosa* – 29,9% и *Acinetobacter* spp. – 15,7% [17, 18, 31].

Для грамположительного и грамотрицательного сепсиса характерны разные механизмы развития синдрома системной воспалительной реакции (SIRS). В инициации воспаления при грамотрицательном сепсисе главная роль принадлежит липополисахариду клеточной стенки (ЛПС), который взаимодействует с ЛПС-связывающим белком и CD14 посредством TLR4. При грамположительном сепсисе происходит взаимодействие компонентов клеточной стенки бактерий – липотейхоевых кислот, пептоглицина, липопроотеина [17, 32, 35]. Установлено, что все современные возбудители обладают общим свойством – антибиотикорезистентностью. В условиях чрезвычайно широкого применения антибиотиков бактерии приобретают всё более изощренные формы защиты в присутствии антибиотиков самых последних поколений. При развитии сепсиса в условиях стационара, особенно в ОРИТ, заведомо можно утверждать, что он вызван госпитальными полирезистентными штаммами [4, 26, 34, 36].

В качестве этиологического фактора выступа-

ют также грибы *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* [5, 17, 18, 31].

Мнения о возможной вирусной этиологии сепсиса разделились: не всеми признается правомочность термина «вирусная септицемия». В обновленной версии МКБ-Х 2017 года этот термин отсутствует. Отечественные патологи, как правило, обозначают данное состояние, как «генерализованная вирусная инфекция» [5, 17, 37].

Однако исследования последних лет убедительно доказали, что вирусы могут запускать SIRS и тяжелую органную дисфункцию. Высокая способность к изменению генома привела к появлению вирусов, обладающих значительно большей способностью, чем классические респираторные вирусы, генерировать некоординированный воспалительный ответ макроорганизма. Такими свойствами обладает SARS-CoV-2 [38, 39].

До сих пор нерешенным является вопрос о правомочности выделения септицемии и септикопиемии в качестве самостоятельных клинико-морфологических форм сепсиса. В отечественных руководствах и практике патологоанатомов принято характеризовать морфологию сепсиса как септицемию или септикопиемию. В условиях современной терапии диагностические критерии этих вариантов сепсиса стираются. В МКБ-Х и решениях консенсусов термины «септицемия» и «септикопиемия» отсутствуют, используется единый термин «сепсис» [5, 21, 22, 40].

Унификация терминологии и упрощение клинической диагностики сепсиса при отсутствии рандомизированных патологоанатомических исследований – одна из причин неполного взаимопонимания между клиницистами и патологоанатомами при оценке танатогенеза и формы сепсиса. Большие трудности при оценке морфологических изменений в органах возникают у патологоанатомов в случаях массивной антибиотикотерапии с отсутствием видимых признаков генерализации инфекции при недоучете минимальных пиемических очагов или их отсутствии, а также при отрицательных прижизненных результатах бактериологических исследований, которые достигают 50% [5, 17, 18, 31, 41, 42]. Затруднения возникают и при оценке изменений во внутренних органах умерших, получавших цитостатическую терапию. Если посмертные бактериологические исследования не проводятся, то диагноз сепсиса в этих случаях, как правило, не ставится.

Отсутствие доступных методов диагностики – таких, как молекулярно-генетические исследования, полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммуногистохимическое исследование (ИГХ) в практике патологоанатомов затрудняет диагностику в условиях патоморфоза сепсиса и нередко ведет к его гиподиагностике [17, 31, 43].

Сепсис является серьезной проблемой клинической и морфологической диагностики в онко-

логической практике. Он развивается как после проведения хирургических вмешательств, так и вследствие применения химио- и лучевой терапии. У онкологических больных риск возникновения сепсиса в 10 раз выше, чем в общей популяции. Текущие показатели внутрибольничной смертности онкологических больных с сепсисом и септическим шоком составляют 20% и 40% соответственно. Эти показатели коррелируют с длительностью пребывания в ОРИТ. Возникновение сепсиса нередко обусловлено длительным использованием центральных венозных катетеров, порт-систем для проведения химиотерапии, применением мочевых катетеров, дренажей, наложение цистостом в связи с их контаминацией микроорганизмами и последующей диссеминацией возбудителей в организме [36, 44].

Локализация первичного очага при сепсисе может быть различной. Нередко нозокомиальные пневмонии, в том числе пневмонии, ассоциированные с искусственной вентиляцией лёгких, часто являются первичным очагом инфекции. Важную роль играет колонизация кишечника патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, активно формирующими биопленки в условиях иммунодефицита, с последующей транслокацией бактерий через систему портальной вены в центральный кровоток [17, 31, 36, 37].

В онкологической практике сепсис может быть представлен двумя вариантами – гиперэргическим и анэргическим [45].

После хирургических вмешательств он проявляется в виде септикопиемии с метастатическими гнойниками в сердце, почках, легких, печени, надпочечниках, реже в ткани головного мозга. В роли первичных очагов при этом выступают гнойно-септические осложнения оперативных вмешательств. Морфология первичного очага зависит от вида и свойств возбудителя. Для стафилококковой инфекции типично гнойное воспаление с образованием абсцессов. При синегнойной инфекции возникают преимущественно мелкие некрозы в тканях с резко выраженными нарушениями кровообращения [6, 7, 31, 35, 46, 47].

Метастатические септические очаги могут быть представлены макроскопически видимыми гнойниками и абсцессами либо выявляться лишь при микроскопическом исследовании в виде мелких очажков, лейкостазов и краевого стояния лейкоцитов после массивной антибиотикотерапии. В сосудах микроциркуляторного русла отмечаются альтерация, десквамация эндотелиальных клеток, полнокровие, сладж-феномен и эритроцитарные стазы, фибриновые свёртки [35, 47]. Повреждению сосудов могут способствовать и антибиотики, которые повышают их проницаемость, стимулируют апоптоз нейтрофильных гранулоцитов, способствуя ферментативному повреждению окружающих тканей [41]. Диагностика сепсиса в условиях

лекарственного патоморфоза затруднена ввиду стертости морфологической картины.

Классическими морфологическими проявлениями сепсиса являются изменения лимфоидной и миелоидной ткани. Селезёнка увеличивается в 2–3 раза, дряблая, даёт обильный соскоб пульпы. При гистологическом исследовании отмечается гиперплазия лимфоидных фолликулов, увеличение количества клеток миелоидного ряда в красной пульпе [6, 37, 45].

Значительно менее изучены проявления сепсиса у больных химиотерапевтических отделений. Противоопухолевая терапия обуславливает развитие вторичного иммунодефицита, угнетение лимфо- и миелопоэза с лейкопенией и агранулоцитозом. Это сопровождается развитием инфекционных осложнений у онкологических больных, которые являются причиной их смерти в 1/3 случаев [36, 45, 48–51].

Цитостатическая терапия нарушает клеточный цикл, вызывая гибель клеток путем некроза и апоптоза. В ответ на это изменяются как локальные, так и системные иммунные реакции. Химиотерапия приводит к усилению цитотоксического ответа CD8+ Т-лимфоцитов. Высокодозное лечение рака яичников цисплатином или паклитакселом приводит к усилению продукции IFN- γ CD8+ Т-клетками как на мышинных моделях, так и у пациентов. Аналогичным образом лечение опухоли молочной железы и фибросаркомы мыши доксорубицином приводит к пролиферации CD8+ Т-клеток, продуцирующих IFN- γ , при этом вызывая миелосупрессию. Циклофосфамид в высоких дозах приводит к снижению NK-клеток. В низких дозах он оказывает влияние на M2-макрофаги так, что они начинают выполнять функции M1-макрофагов [52–56].

Химио- и лучевая терапия изменяют фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов, уменьшая их количество в циркулирующей крови и ухудшая их способность к хемотаксису и фагоцитозу [57, 58].

Применение кортикостероидов в схемах химиотерапии также увеличивает степень иммуносупрессии. Они вызывают как плейотропную дисрегуляцию врожденных и адаптационных иммунных реакций, так и снижение активности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов и лимфоцитов (в основном CD4+ Т-клеток). В высоких дозах они также индуцируют апоптоз клеток [52, 53, 55].

При аутопсии умерших, получавших химиотерапию, сопровождающуюся лимфопенией, лейкопенией, агранулоцитозом сепсис проявляется анэргическим типом тканевых реакций на инфекцию. Он характеризуется отсутствием классических морфологических проявлений, которые развиваются у пациентов после хирургических вмешательств. Патологоанатомическая картина имеет ряд особенностей. Входными воротами чаще

всего становятся слизистые оболочки полости рта, пищевода, желудка, кишечника. Первичный септический очаг характеризуется отсутствием лейкоцитарной инфильтрации, в нём преобладают некротические изменения, при бактериологических исследованиях в них выявляется условно-патогенная микрофлора. В условиях иммунодефицита во внутренних органах вокруг скоплений микроорганизмов отсутствует нейтрофильная инфильтрация, выявляются единичные макрофаги, преобладают альтеративные изменения – некрозы и тяжелые дистрофические изменения. Эти изменения обусловлены микроорганизмами в тканях, в норме свободных от микрофлоры [45, 48].

После химиотерапии в лимфоидной и миелоидной ткани отсутствуют проявления гиперпластических процессов. Селезёнка не увеличена в размерах, соскоб пульпы отсутствует, лимфоидные фолликулы резко уменьшены в размерах или отсутствуют, не наблюдаются признаки миелоидной метаплазии в красной пульпе, отчётливо видна ретикулярная строма органа. Аналогичные изменения селезенки были описаны Н.Д. Клочковым при раневом сепсисе, у ослабленных больных. Для оценки этих изменений предложены термины «аспленореактивный сепсис», «сепсис без острого спленита». В костном мозге определяются единичные фокусы миелопоэза среди жировой ткани [48, 59].

У лабораторных животных, получавших цитостатики, также наблюдается в периферической крови трехростковая цитопения, агранулоцитоз. Во внутренних органах наряду с нарушениями кровообращения в виде полнокровия, диapedезных кровоизлияний, отека и очагов плазморрагии, отмечаются дистрофические изменения и некрозы.

В селезенке уменьшается площадь белой пуль-

пы, в герминативных центрах фолликулов наблюдается апоптоз лимфоцитов, встречаются макрофаги и стромальные клетки с полным отсутствием бластных форм лимфоцитов. В слизистой оболочке тонкой кишки определяются язвенные поражения со скоплениями граммотрицательной микрофлоры и минимальной клеточной инфильтрацией макрофагами и единичными нейтрофилами [60].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сепсис в онкологической практике с патогенетических позиций неоднороден; с учетом реактивности организма целесообразно выделять две его основные формы: гипер- и анэргический. При гиперэргическом сепсисе наблюдается классическая картина септикопиемии с гиперплазией миелоидной и лимфоидной ткани, обилием метастатических гнойных очагов во внутренних органах. При массивной антибиотикотерапии наблюдается патоморфоз сепсиса: морфологическая картина сепсиса в метастатических очагах может быть скудной, с минимальной лейкоцитарной инфильтрацией. Патологоанатомическая диагностика анэргического сепсиса после химиотерапии с применением цитостатиков имеет существенные отличия от картины его гиперэргического варианта. Это связано, прежде всего, с отсутствием индикаторных гиперпластических изменений органов кроветворения и иммуногенеза (прежде всего, селезенки). Метастатические очаги при ареактивном сепсисе представлены тяжелыми альтеративными изменениями в виде некроза и дистрофии в паренхиматозных органах, в норме свободных от микроорганизмов. Воспалительные изменения в пораженных микроорганизмами тканях представлены крайне скудной инфильтрацией единичными нейтрофилами, лимфоцитами и макрофагами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Cassini A, Fleischmann-Struzek C, Naghavi M et al. WHO Sepsis Expert Technical Group. Future directions and priorities in sepsis epidemiology research: a call for action. *Bull World Health Organ* 2021;99(5):398–401. <https://doi.org/10.2471/BLT.20.276709>.
2. Гоманова Л.И., Бражников А.Ю. Сепсис в XXI веке: этиология, факторы риска, эпидемиологические особенности, осложнения, профилактика. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика* 2021;20(3):107–117. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-3-107-117>.
Gomanova LI, Brazhnikov AY. Sepsis in the XXI Century: Etiology, Risk Factors, Epidemiological Features, Complications, Prevention. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2021;20(3):107–117. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-3-107-117>.
3. Markwart R, Saito H, Harder T, et al. Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2020;46(8):1536–1551. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06106-2>
4. Савина В.А., Колосовская Е.Н., Лебедев В.Ф. Актуальные вопросы эпидемиологии сепсиса. *Медицинский альманах* 2014;4(34):20–22.
Savina VA, Kolosovskaya EN, Lebedev VF. Relevant issues of sepsis epidemiology. *Medical Almanach* 2014;34(4):20–22. (In Russ.).
5. Мишнев О.Д., Гринберг Л.М., Зайратьянц О.В. Актуальные проблемы патологии сепсиса: 25 лет в поисках консенсуса. *Архив патологии* 2016;78(6):3–8. <https://doi.org/10.17116/patol20167863-8>.
Mishnyov OD, Grinberg LM, Zairat'yants OV. Actual problems of the pathology of sepsis: 25 years in search of a consensus. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology* 2016;78(6):3–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20167863-8>.
6. Abraham E. New definitions for sepsis and septic shock: continuing evolution but with much still to be done. *JAMA* 2016;315(8):757–759. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0290>.

7. Чирский В.С., Юзвинкевич А.К., Андреева Е.А. Критерии морфологической диагностики сепсиса. Вестник Военно-медицинской академии 2018;4:66–72.
Chirskiy VS, Yuzvinkevich AK, Andreeva EA. Criteria for the morphological diagnosis of sepsis. *Bulletin of the Russian military medical academy* 2018; 4:66–72. (In Russ.).
8. Budelmann G. Hugo Schottmüller, 1867–1936. Das Problem der Sepsis [Hugo Schottmüller, 1867–1936. The problem of sepsis]. *Internist (Berlin)* 1969; 10(3):92–101.
9. Давыдовский И.В. Проблемы причинности в медицине (этиология). Москва: Медгиз; 1962. с. 30–32.
Davydovskiy IV. Problems of causality in medicine (etiology). Moscow: Medgiz; 1962. pp. 30–32. (in Russ.).
10. Пермяков Н.К. Патологическая анатомия и патогенез сепсиса. Архив патологии 1992;54(4):9–13.
Permyakov NK. Pathological anatomy and pathogenesis of sepsis. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii* 1992; 54(4):9–13. (in Russ.).
11. Смольяников А.В., Саркисов Д.С. Н.И. Пирогов – великий ученый, врач, гражданин. Архив патологии. 1982;44(3):3–13.
Smol'yannikov AV, Sarkisov DS. N.I. Pirogov is a great scientist, doctor, citizen. *Arkhiv patologii = Archive of pathology* 1982;44(3):3–13. (in Russ.).
12. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992;101(6):1644–1655. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>.
13. Ertel W, Morrison MH, Wang P et al. The complex pattern of cytokines in sepsis. Association between prostaglandins, cachectin, and interleukins. *Ann Surg* 1991;214(2):141–148. <https://doi.org/10.1097/0000658-199108000-00008>.
14. Joffe J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial Responses in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2020;202(3):361–370. <https://doi.org/10.1164/rccm.201910-1911TR>.
15. Martín-Fernández M, Tamayo-Velasco Á, Aller R et al. Endothelial Dysfunction and Neutrophil Degranulation as Central Events in Sepsis Physiopathology. *Int J Mol Sci* 2021;22(12):62–72. <https://doi.org/10.3390/ijms22126272>.
16. Gyawali B, Ramakrishna K, Dhamoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med* 2019;7:2050312119835043. <https://doi.org/10.1177/2050312119835043>.
17. Гельфанд Б.Р. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. М.: ООО «МИА»; 2017. с. 322–374.
Gel'fand BR. Sepsis: classification, clinical and diagnostic concept and treatment. Moscow : MIA; 2017. pp. 322–374. (In Russ.).
18. Соринсон С.Н. Сепсис: этиология, патогенез, клиника, диагностика, терапия. Краткое справочное руководство. Н. Новгород; 2000. с. 30–39.
Sorinson SN. Sepsis: etiology, pathogenesis, clinic, diagnosis, therapy. A quick reference guide. N. Novgorod ; 2000. pp. 30–39. (In Russ.).
19. Balk RA. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? *Virulence* 2014;5(1):20–26. <https://doi.org/10.4161/viru.27135>.
20. Adib-Conquy M, Cavaillon JM. Compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 2009;101(1):36–47.
21. Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Med* 2003;31(4):1250–1256. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B>.
22. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315(8):801–810. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>.
23. Engoren M, Seelhammer T, Freundlich RE et al. A Comparison of Sepsis-2 (Systemic Inflammatory Response Syndrome Based) to Sepsis-3 (Sequential Organ Failure Assessment Based) Definitions-A Multicenter Retrospective Study. *Critical Care Med* 2020;48(9):1258–1264. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004449>.
24. Руднов В.А., Кулабухов В.В. Сепсис-3: обновленные ключевые положения, потенциальные проблемы и дальнейшие практические шаги. Вестник анестезиологии и реаниматологии 2016;13(4):4–11. <https://doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-4-4-11>.
Rudnov VA, Kulabukhov VV. Sepsis-3: updated main definitions, potential problems and next practical steps. *Messenger of anesthesiology and resuscitation* 2016;13 (4):4–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-4-4-11>.
25. Takauji S, Hayakawa M, Fujita S. A Nationwide Comparison Between Sepsis-2 and Sepsis-3 Definition in Japan. *J Int Care Med* 2020;35(12):1389–1395. <https://doi.org/10.1177/0885066618823151>.
26. Алиев С.А., Алиев Э.С., Гумматов А.Ф. Сепсис: старые догмы и эволюция представлений. Вестник НМХЦ им. Н.И. Пирогова 2020;15(1):132–136. <https://doi.org/10.25881/BPNMSC.2020.32.34.023>.
Aliev SA, Aliev ES, Hummatov AF. Sepsis: old dogmas and the evolution of conception. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center* 2020;15(1):132–136. (In Russ.).
27. Bonet M, Souza JP, Abalos E et al. The global maternal sepsis study and awareness campaign (GLOSS): study protocol. *Reprod Health* 2018;15(1):16. <https://doi.org/10.1186/s12978-017-0437-8>.
28. Kashyap R, Sherani KM, Dutt T et al. Current Utility of Sequential Organ Failure Assessment Score: A Literature Review and Future Directions. *Open Respir Med J* 2021;15:1–6. <https://doi.org/10.2174/1874306402115010001>.
29. Cardoso T, Rodrigues PP, Nunes C et al. Prospective international validation of the predisposition, infection, response and organ dysfunction (PIRO) clinical staging system among intensive care and general ward patients. *Ann Intensive Care* 2021;11(1):180. <https://doi.org/10.1186/s13613-021-00966-7>.
30. Kingren MS, Starr ME, Saito H. Divergent Sepsis Pathophysiology in Older Adults. *Antioxid Redox Signal*

2021;35(16):1358–1375. <https://doi.org/10.1089/ars.2021.0056>.

31. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., ред. Сепсис в начале XXI века. Классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Патологоанатомическая диагностика. Практическое руководство. М.: Литтерра; 2006. с. 139–155. Savel'ev VS, Gel'fand BR. Sepsis at the Beginning of the 21st Century. Classification, clinical and diagnostic concept and treatment. Pathological and anatomical diagnosis. A practical guide. Moscow: Litterra; 2006. pp. 139–155. (In Russ.).
32. Huang M, Cai S, Su J. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets. *Int J Mol Sci* 2019; 20(21):53–76. <https://doi.org/10.3390/ijms20215376>.
33. Behairy MY, Abdelrahman AA, Toraih EA et al. Investigation of TLR2 and TLR4 Polymorphisms and Sepsis Susceptibility: Computational and Experimental Approaches. *Int J Mol Sci* 2022;23(18):10982. <https://doi.org/10.3390/ijms231810982>.
34. Бочоришвили В.Г. О патогенезе условно-патогенных инфекций и значение этой концепции для ранней диагностики острого сепсиса. Нижегородский медицинский журнал 1993;2:52–56. Bochorishvili VG. About the pathogenesis of opportunistic infections and the significance of this concept for the early diagnosis of acute sepsis. *Nizhny Novgorod medical journal = Nizhegorodskii meditsinskiy zhurnal* 1993;2:52–56. (In Russ.).
35. Чирский В.С., Андреева Е.А., Юзвинкевич А.К., Гайворонский И.В. Патологоанатомические характеристики при грамтрицательном и грамположительном сепсисе. Вятский медицинский вестник 2020;65(1):56–62. <https://doi.org/10.24411/2220-7880-2020-10060>.
- Chirsky VS, Andreeva EA, Yuzvinkevich AK, Gayvoronsky IV. Pathological characteristics of gram-negative and gram-positive types of sepsis. *Vyatka Medical Bulletin = Vyatskiy medicinskij vestnik* 2020;1(65):56–62. <https://doi.org/10.24411/2220-7880-2020-10060>.
36. Gudiol C, Albasanz-Puig A, Cuervo G, Carratalà J. Understanding and managing sepsis in patients with cancer in the era of antimicrobial resistance. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:636547. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.636547>.
37. Белянин В.Л., Рыбакова М.Г. Сепсис. Патологическая анатомия. Пособие для врачей. СПб.: ГУЗ ГПАБ. 2004. С. 27–37. Belyanin VL, Rybakova MG. Sepsis. Pathological anatomy. Manual for physicians. St-Petersburg: GPAB. 2004. pp. 27–37. (In Russ.).
38. Grasselli G, Pesenti A, Cecconi M. Critical Care Utilization for the COVID-19 Outbreak in Lombardy, Italy: Early Experience and Forecast During an Emergency Response. *JAMA* 2020;323(16):1545–1546. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4031>.
39. Zhu N, Zhang D, Wang W et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382(8):727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
40. Kumar V, Abbas A and Aster J. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases. 10th Edition. Elsevier, Amsterdam; 2020. pp. 155–158.
41. Рыбакова М.Г. Сепсис: от синдрома системной воспалительной реакции до органной дисфункции. Архив патологии 2021;83(1):67–72. <https://doi.org/10.17116/patol20218301167>.
- Rybakova MG. Sepsis: from systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction. *Archive of Pathology* 2021;83(1):67–72. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20218301167>.
42. Руднов В.А., Кулабухов В.В. Эволюция представлений о сепсисе: история продолжается. Инфекции в хирургии 2015;2:6–10. Rudnov VA, Kulabukhov VV. Evolving understanding of sepsis the ongoing story. *Infections in Surgery = Infeksii v Khirurgii* 2015;(2): 6–10. (In Russ.).
43. Barranco R, Ventura F. Immunohistochemistry in the postmortem diagnosis of sepsis: a systematic review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2020;28(8):571–578. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000790>.
44. Магруппов Б.А., Шарипова В.Х., Убайдуллаева В.У. с соавт. Сопоставление заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов при сепсисе. Архив патологии 2022;84(4):38–44. <https://doi.org/10.17116/patol20228404138>.
- Magrupov BA, Sharipova VKh, Ubaydullaeva VU et al. Comparison of the final clinical and autopsy detected diagnoses in sepsis. *Arkhiv Patologii* 2022;84(4):38–44. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol20228404138>.
45. Фрейнд Г.Г., Крючков А.Н. Патогенетическая гетерогенность сепсиса как формы инфекционного процесса. Медицинский журнал России 1998;1–2:136–138. Freynd GG, Kruchkov AN. Pathogenetic Sepsis Heterogeneity (To the Problem of nature and biological significance of inflammation). *The Medical Journal of Russia* 1998;(1–2):136–138. (In Russ.).
46. Мишнёв О.Д., Шёголев А.И., Трусов О.А. Патологоанатомическая диагностика сепсиса. Методические рекомендации. Москва; 2004. с. 13–17. Mishnyov OD, Shchyogolev AI, Trusov OA. Pathological anatomical diagnosis of sepsis. Guidelines. Moscow; 2004. pp.13–17. (In Russ.).
47. Чирский В.С., Андреева Е.А., Юзвинкевич А.К. Морфологические особенности поражения сосудов микроциркуляторного русла при сепсисе. Учёные записки Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова 2020;27(3):72–79. <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2020-27-3-72-79>.
- Chirskij VS, Andreeva EA, Yuzvinkevich AK. Morphological features of vascular lesions of the microvasculature in sepsis. *The Scientific Notes of the Pavlov University* 2020;27(3):72–79. (In Russ.). <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2020-27-3-72-79>.
48. Фрейнд Г.Г., Старун А.С., Счастливая Т.А. Сепсис как осложнение химиотерапии. В кн.: Актуальные аспекты патологической анатомии. Курган; 1993. с. 27–29. Freynd GG, Starun AS. Sepsis as a complication of chemotherapy. In: Topical aspects of pathological anatomy. Kurgan; 1993. p. 27–29. (In Russ.).

49. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev* 2018;32(19-20):1267–1284. <https://doi.org/10.1101/gad.314617.118>.
50. Hiam-Galvez KJ, Allen BM, Spitzer MH. Systemic immunity in cancer. *Nat Rev Cancer* 2021;21(6):345–359 <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00347-z>.
51. Rubio I, Osuchowski MF, Shankar-Hari M et al. Current gaps in sepsis immunology: new opportunities for translational research. *Lancet Infect Dis* 2019;19(12):422–436. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30567-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30567-5).
52. Martin MD, Badovinac VP, Griffith TS. CD4 T Cell Responses and the Sepsis-Induced Immunoparalysis State. *Front Immunol* 2020;11:1364. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01364>.
53. Jarczak D, Kluge S, Nierhaus A. Sepsis-Pathophysiology and Therapeutic Concepts. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:628302. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.628302>.
54. Medler TR, Cotechini T, Coussens LM. Immune response to cancer therapy: mounting an effective antitumor response and mechanisms of resistance. *Trends Cancer* 2015;1(1):66–75. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2015.07.008>.
55. Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Aosasa S. Mechanisms of sepsis-induced immunosuppression and immunological modification therapies for sepsis. *Ann Gastroenterol Surg* 2018;2(5):351–358. <https://doi.org/10.1002/ags3.12194>.
56. Watanabe E, Thampy LK, Hotchkiss RS. Immunoadjuvant therapy in sepsis: novel strategies for immunosuppressive sepsis coming down the pike. *Acute Med Surg* 2018;5(4):309–315. <https://doi.org/10.1002/ams2.363>.
57. Llitjos JF, Auffray C, Alby-Laurent F et al. Sepsis-induced expansion of granulocytic myeloid-derived suppressor cells promotes tumour growth through Toll-like receptor 4. *J Pathol* 2016;239(4):473–483. <https://doi.org/10.1002/path.4744>.
58. Jaillon S, Ponzetta A, Di Mitri D et al. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat Rev Cancer* 2020;20(9):485–503. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0281-y>.
59. Гучев И.А., Ключков О.И. Оптимизация терапии сепсиса (обзор литературы). Военно-медицинский журнал 2003;9:23–29.
- Guchev IA, Klovchikov OI. Optimization of sepsis therapy. *Military Medical Journal = Voennno-medicinskij zhurnal* 2003;9:23–29. (In Russ.).
60. Гуляева Н.И., Фрейнд Г.Г., Вдовина Г.П. Морфологическая характеристика изменений внутренних органов при цитотоксическом воздействии в эксперименте. Вопросы морфологии XXI века 2022;7:264–269.
- Gulyaeva NI, Freynd GG, Vdovina GP. Morphological characteristics of changes in organs under toxic cytotoxic effects in the experiment. *Questions of morphology of the XXI century = Voprosy morfologii XXI veka* 2022;7:264–269.

Сведения об авторах:

Г.Г. Фрейнд – доктор медицинских наук, профессор;
А.А. Булдакова – студентка.

Information about the authors

G.G. Freynd – Doctor of Science (Medicine), Professor;
A.A. Buldakova – student.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза не требуется.

Ethics approval is not required.

Информированное согласие не требуется.

Informed consent is not required.

Статья поступила в редакцию 15.02.2023; одобрена после рецензирования 27.03.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 15.02.2023; approved after reviewing 27.03.2023; accepted for publication 01.04.2023.

Подписано в печать: 15.04.2023. Дата выхода: 20.04.2023.
Формат 60х84 1/8. Усл.печ.л. 10,125
Тираж 100 экз. Заказ № 3079. Свободная цена.
Адрес редакции «Уральского медицинского журнала»
620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.
Отпечатано в типографии ИП Копыльцов П.И.
394052, Воронежская область, г. Воронеж, ул. Маршала Неделина, д. 27, кв. 56.
Тел.: 89507656959. E-mail: Kopyltsow_Pavel@mail.ru