

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2020, том 10, № 3

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. В. Кубышкин (главный редактор)
И. И. Фомочкина (заместитель главного редактора)
М. А. Плотникова (ответственный секретарь)
В. А. Белоглазов, К. А. Ефетов, А. М. Кацев

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Л. Дубаске (Вашингтон, США), *Е. В. Евстафьева* (Симферополь, Россия),
В. П. Завьялов (Турку, Финляндия), *И. Л. Кляритская* (Симферополь, Россия),
Я. Коки (Люблин, Польша), *Ю. Л. Криворутченко* (Симферополь, Россия),
А. В. Матвеев (Симферополь, Россия), *О. Матсуо* (Осакасама, Япония),
В. Ю. Михайличенко (Симферополь, Россия), *С. Н. Орлов* (Монреаль, Канада),
А. В. Петров (Симферополь, Россия), *А. Петросян* (Оаха, США),
М. Покорский (Ополе, Польша), *О. А. Притуло* (Симферополь, Россия),
А. Г. Резников (Киев, Украина), *И. Д. Сапегин* (Симферополь, Россия),
Г. М. Тарман (Инсбрук, Австрия), *Т. Трояновский* (Люблин, Польша),
С. Э. Шибанов (Симферополь, Россия), *Я. М. Шуба* (Киев, Украина),
А. Б. Хайтович (Симферополь, Россия)

На первой странице обложки — репродукция картины Роберта Тома «Трепанация в Древнем Перу»

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского
E-mail: nauka_3@ma.cfuv.ru

Журнал является правопреемником Трудов КГМУ, издающихся с 1935 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций Российской Федерации. Свидетельство ПИ № ФС77-61787 от 18 мая 2015 г.

Индекс издания ISSN: 2224-6444 (печатная версия), 2244-6452 (online)

С 07 декабря 2015 года журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук».

В соответствии с распоряжением Минобрнауки России от 28 декабря 2018 года № 90-р, журнал считается включенным в Перечень ВАК по следующим научным специальностям и соответствующим им отраслям наук:

03.01.02 – Биофизика (медицинские науки); 03.01.03 – Молекулярная биология (биологические науки); 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки); 03.01.07 – Молекулярная генетика (биологические науки); 03.01.08 – Биоинженерия (биологические науки); 03.01.09 – Математическая биология, биоинформатика (медицинские науки); 03.03.01 – Физиология (медицинские науки); 03.03.02 – Антропология (медицинские науки); 03.03.03 – Иммунология (медицинские науки); 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки); 03.03.05 – Биология развития, эмбриология (медицинские науки); 03.03.06 – Нейробиология (медицинские науки); 14.03.01 – Анатомия человека (медицинские науки); 14.03.02 – Патологическая анатомия (медицинские науки); 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки); 14.03.05 – Судебная медицина (медицинские науки); 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки); 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики (медицинские науки); 14.03.08 – Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки); 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки); 14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки); 14.03.11 – Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки).

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124

Рекомендовано к печати ученым советом Медицинской академии имени С. И. Георгиевского (протокол № 8 от 24.09.2020)

УЧРЕДИТЕЛЬ:

ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

Герасимова-Мейгал Л. И., Табаев И. А. ВАЗОМОТОРНЫЕ РЕАКЦИИ НА ЛОКАЛЬНОЕ ОХЛАЖДЕНИЕ У МОЛОДЫХ ЛИЦ С НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ.....	5
Gerasimova-Meigal L. I., Tabaev I. A. VASOMOTOR REACTIONS ON LOCAL COOLING IN YOUNG INDIVIDUALS WITH NICOTINE ADDICTION	5
Геренг Е. А., Весир И. Р., Ключина Т. С. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИМПЛАНТАТА ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ).....	12
Gereng E. A., Vesir I. R., Kliushina T. S. MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF LIVER REGENERATION WHEN USING THE IMPLANT MADE OF TITANIUM NICKELIDE (EXPERIMENTAL STUDY)	12
Голубинская Е. П., Филоненко Т. Г., Ермола Ю. А., Геращенко А. В., Кубышкин А. В., Кальфа М. А., Крамарь Т. В. НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ВТОРИЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА	16
Golubinskaya E. P., Filonenko T. G., Yermola Yu. A., Gerachenko A. V., Kubyshkin A. V., Kalfa M. A., Kramar T. V. NON-SPECIFIC IMMUNOLOGICAL RESISTANCE IN DIFFERENT FORMS OF SECONDARY TUBERCULOSIS.....	16
Лазанович В. А., Маркелова Е. В., Шуматов В. Б., Костюшко А. В. ОЦЕНКА ФЕНОТИПА ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	26
Lazanovich V. A., Markelova E. V., Shumatov V. B., Kostyushko A. V. ASSESSMENT OF THE IMMUNE RESPONSE PHENOTYPE IN PATIENTS WITH SURGICAL SEPSIS DEPENDING ON THE COURSE AND OUTCOMES OF THE DISEASE.....	26
Османов Ю. И., Коган Е. А., Демяшкин Г. А., Таланов А. С., Щекин В. И. ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ OCT4, NANOG И ЭНДОГЛИНА В ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМАХ	31
Osmanov Y. I., Kogan E. A., Demyashkin G. A., Talanov A. S., Shchekin V. I. FEATURES OF EXPRESSION OF OCT4, NANOG AND ENDOGLIN IN RENAL CELL CARCINOMAS	31
Ситковская А. О., Росторгуев Э. Е., Тимофеева С. В., Межевова И. В., Филиппова С. Ю., Шамова Т. В., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ.....	39
Sitkovskaya A. O., Rostorguev E. E., Timofeeva S. V., Mezhevova I. V., Filippova S. Yu., Shamova T. V., Timoshkina N. N., Gvaldin D. Yu. RESEARCH OF MICROSATELLITE INSTABILITY IN PRIMARY CELL LINE LOW-DIFFERENTIATED GLIAL TUMORS	39
Скоркина М. Ю., Жернакова Н. И., Шевченко Т. С., Зеленцова А. С. БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛОЦИТОВ БОЛЬШЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НАГРУЗКИ С АТФ IN VITRO	43

Skorkina M. Yu., Zhernakova N. I., Shevchenko T. S., Zelentsova A. S.

BIOPHYSICAL PROPERTIES OF CELL SURFACE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA DURING MODELING OF ATP LOAD IN VITRO43

Шаповалова Е. Ю., Демяшкин Г. А., Маланичев М. Ю., Погосян Д. А., Зорин И. А., Щекин В. И.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОФАГОВ КОЖИ В УСЛОВИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СЕПСИСА.....48

Shapovalova Ye. Yu., Demyashkin G. A., Malanichev M. Y., Pogosyan D. A., Zorin I. A., Shchekin V. I.

IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF SKIN MACROPHAGES IN EXPERIMENTAL SEPSIS.....48

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ**CLINICAL CASE****Конкина В. В., Плотникова Н. А., Камалихин И. В.**

ТРУДНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРОНХИОЛОАЛЬВЕОЛЯРНОГО РАКА ЛЕГКИХ СРЕДИ БОЛЬНЫХ ФТИЗИАТРИЧЕСКОГО И ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ55

Konkina V. V., Plotnikova N. A., Kamalikhin I. V.

DIFFICULTIES OF DIAGNOSIS AND CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF BRONCHIOALVEOLAR PULMONARY CANCER AMONG PATIENTS WITH PHYSIATRIC AND PULMONOLOGICAL PROFILE55

ОБЗОРЫ**REVIEWS****Крамарь Т. В.**

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОГО НЕОАНГИОГЕНЕЗА59

Kramar T. V.

PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF INFLAMMATORY AND NON-INFLAMMATORY NEOANGIOGENESIS.....59

Николенко В. Н., Чаиркин И. Н., Чаиркина Н. В., Кочурова Е. В., Суслов А. В., Симандуев М. Я., Вадюхин М. А., Касаева Н. А., Смолевский А. Г., Шешенева И. И.

ОКОЛОРОТОВОЙ (ЮКСТАОРАЛЬНЫЙ) ОРГАН Й. ХИВИЦА - НЕРАСКРЫТАЯ ТАЙНА АНАТОМИИ XXI ВЕКА.....64

Nikolenko V. N., Chairkin I. N., Chairkina N. V., Kochurova E. V., Suslov A. V.,**Simanduev M. Y., Vadyukhin M. A., Kasaeva N. A., Smoleevskiy A. G., Shesheneva I. I.**

THE PERIORAL (JUXTAORAL) OF J. CHIVITZ ORGAN - THE UNSOLVED MYSTERY OF THE ANATOMY OF THE XXI CENTURY.....64

Хайтович А. Б.

КОРОНАВИРУСЫ (ТАКСОНОМИЯ, СТРУКТУРА ВИРУСА).....69

Khaitovich A. B.

CORONAVIRUS (TAXONOMY, VIRUS STRUCTURE).....69

МАТЕРИАЛЫ Первого Крымского онлайн-форума «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (7-8 октября 2020 года) при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) (грант 20-015-22002).....82

УДК: 613.84:[612.181+612.592]

DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-5-11

ВАЗОМОТОРНЫЕ РЕАКЦИИ НА ЛОКАЛЬНОЕ ОХЛАЖДЕНИЕ У МОЛОДЫХ ЛИЦ С НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ

Герасимова-Мейгал Л. И., Табаев И. А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ), Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, 185910, пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Россия

Для корреспонденции: Герасимова-Мейгал Людмила Ивановна, доктор медицинских наук., профессор кафедры физиологии человека и животных, патофизиологии, гистологии Петрозаводского государственного университета, e-mail: gerasimova@petsru

For correspondence: Gerasimova-Meigal L.I., MD, Professor of the Department of Human and Animal Physiology, Pathophysiology, Histology, Petrozavodsk State University, e-mail: gerasimova@petsru

Information about authors:

Gerasimova-Meigal L. I., <http://orcid.org/0000-0002-3677-3764>

Tabaev I. A., <https://orcid.org/0000-0002-3650-8979>

РЕЗЮМЕ

В условиях неблагоприятного климата северных регионов России табакокурение усугубляет негативные влияния на здоровье, повышая заболеваемость населения патологией сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также онкологическими болезнями. Целью настоящего исследования было изучение вазомоторных реакций при локальном охлаждении у молодых лиц с никотиновой зависимостью. Материал и методы. В исследовании приняли участие 24 практически здоровых человека (13 м, 11 ж) возраста 18-27 лет, среди которых выделена группа с начальной стадией никотиновой зависимости (n=16) и группа сравнения (n=8). Степень никотиновой зависимости определяли с помощью теста Фагерстрема и вычисления индекса курения. Для исследования вазомоторных реакций использован локальный холододовый тест (ЛХТ), исследование автономной регуляции проведено с помощью анализа временных и спектральных характеристик вариабельности ритма сердца (ВРС). Результаты. По результатам анализа динамики температуры кожи кисти во время ЛХТ у лиц с никотиновой зависимостью была выявлена усиленная холод-индуцированная вазоконстрикция. Оценка ВРС показала в группе с никотиновой зависимостью снижение уровня ваготонии на основании более низких значений временных (SDNN, RMSSD, pNN50 и CV) и спектральных (TP, HF и LF) параметров ВРС. Функциональная проба с глубоким управляемым дыханием выявила в группе с никотиновой зависимостью недостаточную реактивность нейрогенных механизмов управления сердечным ритмом. Изменения ВРС, отражающие нарушения адаптации, более выражены в группе с высоким потреблением сигарет. Заключение. У лиц с начальной степенью никотиновой зависимости формируются изменения реактивности центрального и периферического звеньев системы кровообращения донозологического характера. Повышенная реактивность сосудов при проведении ЛХТ, а также явления нарушенной адаптации по результатам анализа ВРС могут служить ранними признаками системных эффектов табакокурения.

Ключевые слова: локальный холододовый тест; вариабельность ритма сердца; табакокурение, никотиновая зависимость.

VASOMOTOR REACTIONS ON LOCAL COOLING IN YOUNG INDIVIDUALS WITH NICOTINE ADDICTION

Gerasimova-Meigal L. I., Tabaev I. A.

Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

SUMMARY

Tobacco smoking, as a harmful individual habit, aggravates the negative environmental effects on health in people living in the northern regions of Russia, by increasing the incidence of diseases of the cardiovascular and respiratory systems, and oncological diseases. This study was aimed at elucidating the vasomotor reactions on local cooling in young people with nicotine addiction. Materials and methods. Twenty four practically healthy people (13 m, 11 f) aged 18-27 years were enrolled to the study. Of these, 16 subjects with initial stage of nicotine addiction formed the study group, and 8 non-smoking subjects served as a reference group. The degree of nicotine addiction was assessed with the Fagerstrom test and the smoking index. The local cold test (LCT) was used to study vasomotor reactions. The autonomous regulation was estimated by analyzing the time- and frequency-domain characteristics of heart rate variability (HRV). Results. In the group with nicotine addiction, increased cold-induced vasoconstriction was revealed from the dynamics of the hand skin temperature during LCT. Also, this group was characterized by decreased vagotonia seen as lower values of time- (SDNN, RMSSD, pNN50 and CV) and frequency- domain (TP, HF and LF) parameters of HRV. The functional test with deep controlled breathing revealed in this group lower reactivity of neurogenic mechanisms of heart rate control. Among subjects with higher number of cigarette consumption, HRV changes which corresponded with adaptation disorders were more notable. Conclusion. Individuals with initial degree of nicotine addiction were

characterized by the impaired reactivity of the central and peripheral parts of the circulatory system what means lower health capacity of the organism. Increased vascular reactivity during LCT, as well as the impaired adaptation seen with HRV analysis, could serve as early indicators of the systemic effects of tobacco smoking.

Key words: local cold test; heart rate variability; tobacco smoking, nicotine addiction.

Как известно, образ жизни современного человека с элементами контролируемых индивидуальных факторов вносит значительный вклад в состояние здоровья. Табакокурение является распространенной привычкой, которая наносит существенный вред здоровью, так как повышает риск развития многих хронических заболеваний человека, опухолевых и неопухолевых, и является причиной преждевременной смерти [1; 2]. Распространенность табакокурения в странах Европы и в России составляет 29-31% [1; 3]. Во многих странах возраст начала курения составляет 10-15 лет, а регулярная привычка формируется к 20 годам [1]. Согласно данным Антоновой Н. Л. [4], частота табакокурения среди студентов близка к 25%. Таким образом, в студенческие годы табакокурение составляет значительную часть поведенческих рисков в отношении здоровья.

В условиях неблагоприятного климата северных регионов России табакокурение усугубляет негативные влияния на здоровье, повышая заболеваемость населения патологией сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также онкологическими болезнями. Считается, что раньше всего проявляется риск, связанный с табакокурением в отношении патологии системы кровообращения, в то время как риски канцерогенеза и патологии системы дыхания характеризуются отсроченными эффектами [1].

Согласно нашим исследованиям, дисрегуляция в системе кровообращения в форме склонности к вазоспастическим реакциям отражает

состояние напряжения адаптации организма в период акклиматизации к условиям Севера [5], а также при хронических заболеваниях [6; 7]. Усиление вазомоторных реакций на холоде, которое опосредовано адренергическими влияниями и имеет общее звено регуляции со стрессорной реакцией организма, может отражать общую напряженность компенсаторно-приспособительных процессов в организме [5]. Раннее выявление нарушений адаптации и устранение факторов риска может значительно минимизировать негативные влияния на здоровье, что доказано в отношении влияния отказа от курения на частоту многих патологических состояний [1].

Целью настоящего исследования было изучение вазомоторных реакций при локальном охлаждении у молодых лиц с никотиновой зависимостью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 24 практически здоровых лиц (11 м, 13 ж) возраста 18-27 лет из числа студентов Петрозаводского государственного университета (ПетрГУ), которые были привлечены на основе добровольного согласия и проинформированы о целях и методике проведения исследований. Группу сравнения составили 8 человек (3 м, 5 ж), не имеющие привычки и опыта табакокурения, и 16 человек (8 м, 8 ж) с никотиновой зависимостью. Средний возраст участников исследования составил $20 \pm 2,3$ лет. Антропометрические характеристики групп приведены в табл. 1.

Таблица 1

Антропометрические данные участников исследования

Пол	Возраст, лет	Вес, кг	Рост, см	ИМТ
Муж (n=13)	21±3	71±10	180±10	22±2
Жен (n=10)	19±1	56±5	164±6	21±2

$$ИК = \frac{\text{число сигарет, выкуриваемых в день} \cdot \text{стаж курения (в годах)}}{20}$$

Степень никотиновой зависимости определяли с помощью теста Фагерстрема, который учитывает суточное потребление сигарет и стаж курения [8], и вычисления индекса курения (ИК) [9].

Функциональные тесты выполнены в дневное время в условиях лаборатории (температура воздуха +22-24 °С, влажность – 50-60 %, ско-

рость движения воздуха – менее 0,1 м/с) после 30-минутного нахождения испытуемого в спокойном помещении для стабилизации температуры кожи.

Исследование вазомоторных реакций проведено с помощью локального холодного теста (ЛХТ), который применяется для исследования вегетативной нервной системы [10]. Методика проведения ЛХТ и регистрация показателей температуры кожи кистей применялась нами в предыдущих исследованиях [5; 6; 11]. Кисть

правой руки погружали в холодную воду $4-9^{\circ}\text{C}$ (в среднем $-5,5\pm 1,3^{\circ}\text{C}$) на 3 мин с последующей термометрией кожи и контролем гемодинамических показателей. Термометрия кожи проведена с помощью электронного термометра «DT 633» («A&D Company Ltd», Япония). Измерение температуры кожи проведено в симметричных точках обеих рук на середине тыльной поверхности кисти непосредственно перед проведением ЛХТ, затем по его окончании и в течение последующих 15 мин с интервалом в 3 мин.

Систолическое и диастолическое артериальное давление (САД и ДАД, соответственно) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли с помощью полуавтоматического тонометра UA-705 (A&D, Япония) в исходном состоянии, по окончании ЛХТ, а также на 6-й и 15-й минутах восстановительного периода.

Для оценки автономной регуляции использовали анализ временных и спектральных параметров variability ритма сердца (ВРС) в покое (положение лежа на спине при спонтанной частоте дыхания $14-16$ мин $^{-1}$) и при проведении функциональных проб с глубоким управляемым дыханием (ГУД, при частоте дыхания 6 мин $^{-1}$) и во время ортостатической пробы (ОП). Исследование выполнено с помощью прибора «ВНС-спектр» («Нейрософт», Иваново, РФ). Анализ ВРС выполнен на 5-минутных отрезках записей ЭКГ во втором стандартном отведении в соответствии с международными рекомендациями кардиологов [12].

Статистический анализ результатов выполнен с использованием методов вариационной статистики. Для оценки различий между исследуемыми группами использованы непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Достоверными считали результаты при уровне значимости p менее $0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка никотиновой зависимости у табакокурящих лиц по тесту Фагерстрема показала, что все студенты имеют начальную степень никотиновой зависимости. Стаж курения составлял 2-4 года. Вместе с тем, среди табакокурящих студентов были выделены две группы с разным суточным потреблением сигарет и, соответственно, разные величины ИК. Группа ИК-1 включала трех мужчин и трех женщин, чье суточное потребление составляло 4-6 сигарет, среднее значение ИК равно $0,75$. Группа ИК-2 включала семь мужчин и трех женщин, чье суточное потребление составляло 11-20 сигарет, среднее значение ИК равно $2,25$.

Гемодинамические параметры в покое у участников всех групп соответствовали норме: САД в среднем составило 111 ± 9 мм рт. ст.,

ДАД - 73 ± 7 мм рт. ст., ЧСС - 69 ± 8 мин $^{-1}$. При проведении ЛХТ изменения САД, ДАД и ЧСС в основном не выходили за границы нормальных значений во всех группах исследования, однако в группе ИК-2 сразу после локального охлаждения отмечено достоверное повышение ДАД по сравнению с исходным состоянием ($p < 0,05$).

Динамика температуры кисти при проведении ЛХТ представлена на рис. 1. Исходные значения температуры кожи кисти составляли $30,9\pm 2,6^{\circ}\text{C}$. После локального охлаждения происходило значительное снижение температуры кожи кисти на $10-14^{\circ}\text{C}$. Затем происходило постепенное восстановление температуры кожи кисти, которая в группе сравнения практически соответствовала исходным значениям к 9-й минуте наблюдения. В группах с никотиновой зависимостью (ИК-1 и ИК-2) температура кожи кисти до конца периода наблюдения (15-я минута) была ниже исходных значений. Существенных различий в динамике температуры кожи кисти между группами с никотиновой зависимостью нами не выявлено.

Результаты анализа временных параметров ВРС представлены в табл. 2. При исследовании в покое в группах с никотиновой зависимостью выявлены более низкие значения SDNN, RMSSD, pNN50 и CV, что свидетельствует об уменьшении вагусных влияний на сердечную деятельность. При выполнении пробы с ГУД ВРС в группах с никотиновой зависимостью также характеризовалась низкими значениями временных параметров, что отражает недостаточное вовлечение парасимпатических механизмов регуляции [10; 12].

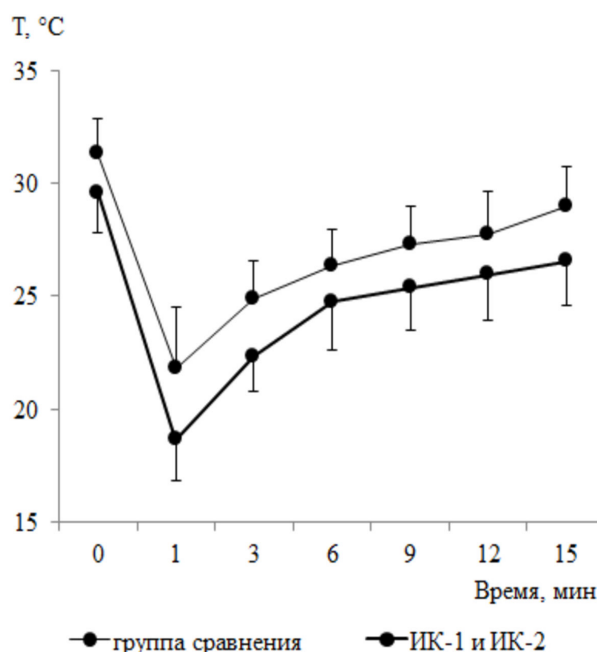


Рис. 1. Динамика температуры кожи кисти во время локального холодового теста.

Таблица 2

**Временные параметры variability ритма сердца в исследованных группах
(данные представлены в формате Me (25%; 75%))**

Исследуемый параметр	Контроль	ИК-1	ИК-2	P (критерий Краскела-Уоллиса)
Фоновая проба				
ЧСС, мин-1	62 (56; 72)	63 (59; 66)	69 (62; 76)	
RRNN, мс	973 (831; 1074)	963 (916; 1010)	877 (795; 968)	
SDNN, мс	104 (94; 111)	71 (70; 72)	56 (43; 74)	p<0,01
RMSSD, мс	110 (86; 115)	70 (67; 75)	51 (35; 62)	p<0,01
pNN50, %	54,3 (44,2; 63,1)	36,6 (25,5; 38,3)	23,6 (12,1; 36,6)	p<0,05
CV, %	10,78 (9,34; 11,60)	7,33 (6,75; 7,64)	6,42 (4,24; 8,18)	p<0,05
Глубокое управляемое дыхание				
ЧСС, мин-1	71 (59; 72)	71 (68; 74)	71 (67; 84)	
RRNN, мс	849 (832; 1016)	849 (818; 874)	846 (718; 900)	
SDNN, мс	159 (144; 167)	111 (105; 123)	124 (109; 129)	p<0,05
RMSSD, мс	134 (108; 50)	80 (70; 82)	85 (71; 93)	
pNN50, %	49,2 (44,6; 53,8)	33,8 (31,7; 36,5)	41,0 (29,7; 50,6)	p<0,05
CV, %	17,69 (16,10; 19,70)	13,19 (12,75; 14,20)	15,10 (13,18; 16,65)	p<0,01

Характеристики спектра ВРС представлены на рис. 2. В группах с никотиновой зависимостью выявлено снижение параметров общей мощности спектра (TP) и компонентов спектра, характеризующие нейрогенные влияния на сердечную деятельность (HF и LF). Вегетативный баланс (LF/HF) у большинства участников в группе сравнения соответствовал ваготонии ($0,78 \pm 0,45$), в группе ИК-1 ваготония была выражена в меньшей степени ($0,98 \pm 0,70$), для участников из группы

ИК-2 больше была характерна симпатикотония ($1,03 \pm 0,57$). В пробе с ГУД в группах ИК-1 и ИК-2 также наблюдались более низкие значения TP, HF и LF, что отражает снижение вклада нейрогенных механизмов регуляции сердечного ритма [10; 12]. При проведении ортостатической пробы нами не выявлено достоверных различий между группами по показателю K30/15, что отражает нормальное функционирование барорецепторного механизма [10; 12].

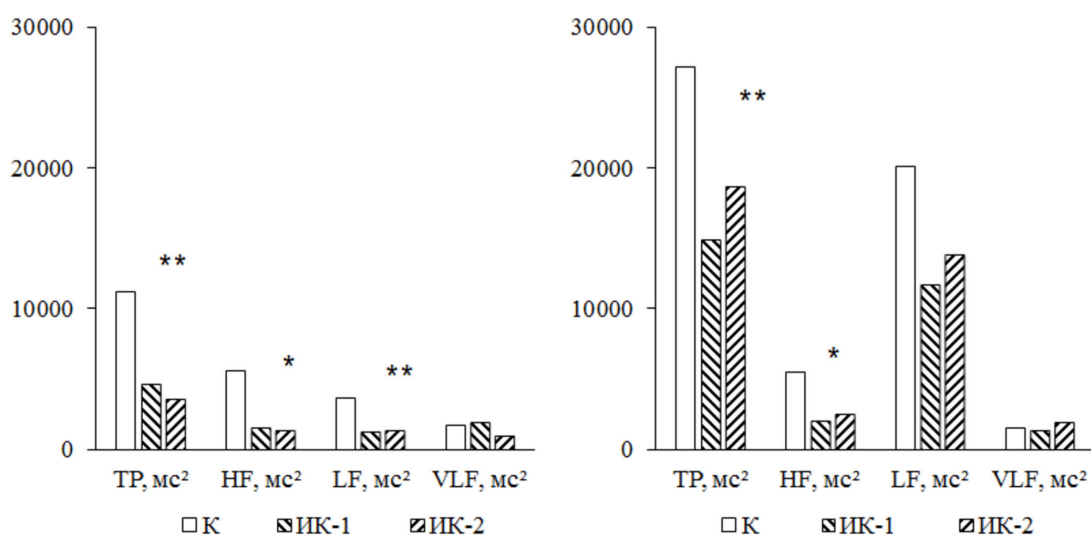


Рис. 2. Спектральные характеристики ВРС в покое (справа) и в пробе с глубоким управляемым дыханием (слева). Достоверность различий между группами по критерию Краскела-Уоллиса: * - p<0,05, ** - p<0,01.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты ЛХТ показали, что для лиц с никотиновой зависимостью (группы ИК-1 и ИК-2) характерна усиленная реакция холод-индуцированной вазоконстрикции, которая определяется по замедлению восстановления температуры кожи рук. Аналогичные результаты ранее описаны у лиц в начальном периоде адаптации к холоду на фоне компенсаторного повышения активности адренергических механизмов регуляции [5; 11]. Также подобная реакция наблюдалась у лиц с хроническими заболеваниями с повышенной активностью симпатoadреналовых механизмов регуляции или за счет повышения адреночувствительности сосудов [6; 7]. Известно, что механизм холод-индуцированной вазоконстрикции связан с временным ингибированием механизма эндотелий-зависимой вазодилатации, в основе которой лежит взаимодействие локальных (эндотелиальных) и системных нейро-гуморальных факторов, опосредованных в основном симпатическими адренергическими влияниями [13; 14]. Системные эффекты табакокурения также реализуются через дисфункцию эндотелия [15; 16] и повышение активности симпатической системы [16], что в целом объясняет выявленные нами особенности результатов ЛХТ у лиц с никотиновой зависимостью.

Нами не выявлено существенных изменений реактивности системы кровообращения в ходе проведения ЛХТ в группе лиц с никотиновой зависимостью, за исключением некоторого повышения ДАД в группе ИК-2, зарегистрированного во время погружения кисти в холодную воду. Это может объясняться тем, что вначале табакокурение может вызывать разнонаправленные эффекты изменения функции центрального периферического отдела сосудистого русла, в том числе у некоторых испытуемых потенцировать эффекты эндотелий-зависимого расслабления, которые сглаживают нейрогенные адренергические вазоспастические влияния [17]. Вместе с тем, многие авторы указывают на то, что у курильщиков усиление оксидативного стресса и провоспалительной активности играет ключевую роль в снижении биодоступности NO и развитии дисфункции эндотелия, которая является основой патогенеза нарушений вазомоторной функции эндотелия, повышения его адгезивных свойств и других механизмов патологии системы кровообращения [15; 16].

Исследование механизмов автономной регуляции на основании анализа ВРС выявило начальные признаки нарушения адаптации у лиц с никотиновой зависимостью, сходные с результатами наших предыдущих исследований [6; 7; 11]. Так, снижение уровня ваготонии по данным

анализа временных и спектральных характеристик ВРС обычно расценивается как уменьшение адаптационных резервов организма [12].

Таким образом, наше исследование показало, что нарушения функции системы кровообращения донозологического характера имеют место уже в начальной стадии никотиновой зависимости при небольшом стаже курения. Вместе с тем, существуют данные о том, что негативные эффекты табакокурения на функцию сердечно-сосудистой системы устраняются при своевременном отказе от вредной привычки [1; 16]. В этой связи выявление ранних нарушений реактивности системы кровообращения, а также документирование патологических реакций у лиц с никотиновой зависимостью может стать весомым аргументом для отказа от вредной привычки и снижения риска негативного влияния на здоровье.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало, что у лиц с начальной степенью никотиновой зависимости формируются изменения реактивности центрального и периферического звеньев системы кровообращения донозологического характера. Повышенная реактивность сосудов при проведении ЛХТ, а также явления нарушенной адаптации по результатам анализа ВРС могут служить ранними признаками системных эффектов табакокурения.

Финансовая поддержка

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 0752-2020-0007).

The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 0752-2020-0007).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. West R. Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychol Health*. 2017;32(8):1018-1036. doi:10.1080/08870446.2017.1325890.
2. Gambaryan M., Reeves A., Deev A., Popovich M., Drapkina O., Snell A., Stuckler D., Mauer-Stender K., Mikkelsen B., Boytsov S Effects of tobacco control policy on cardiovascular morbidity and mortality in Russia. *Eur J Public Health*. 2018;28(2):14-16. doi:10.1093/eurpub/cky148
3. WHO. Tobacco control in the Russian Federation. Available at: <https://www.who.int/tobacco/surveillance/>

policy/country_profile/rus.pdf?ua=1. Accessed September, 11.2020.

4. Антонова Н. Л. Студенческая молодежь: поведенческие риски в отношении здоровья. *Дискуссия*. 2015;2(54):840-88.

5. Герасимова Л. И., Федосова А. А. Особенности вегетативной регуляции у лиц с различной восприимчивостью к холоду. *Физиология человека*. 2016;42(2):127-133. doi:10.7868/S013116461506003

6. Берлогина С. Ю., Герасимова Л. И. Вегетативная регуляция в системе кровообращения у лиц в раннем восстановительном периоде ишемического гемодинамического инсульта. *Фундаментальные исследования*. 2011;10-3:477-80.

7. Герасимова-Мейгал Л. И., Сиренев И. М. Холод-индуцированная реактивность у пациентов с рассеянным склерозом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017;61(3):56-62. doi:10.25557/0031-2991.2017.03.56-62.

8. Etter J. F., Duc T. V., Perneger T. V. Validity of the Fagerström test for nicotine dependence and of the Heaviness of Smoking Index among relatively light smokers. *Addiction*. 1999;94(2):269-281. doi:10.1046/j.1360-0443.1999.94226910.x

9. Шаповалова Т. Г., Рябова А. Ю., Пластинина Е. С., Пономарева О. А., Шелобанова Н. В., Шашина М. М., Закирова В. Б. Хроническая обструктивная болезнь легких у пациентов кардиологического профиля: проблемы диагностики и лечения. *Вестник современной клинической медицины*. 2016;9(1):79-83. doi:10.20969/vskm.2016.9(1).79-83.

10. Вегетативные расстройства: клиника диагностика, лечение. Под ред. Вейн А. М. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2003.

11. Gerasimova-Meigal L., Fedosova A., Meigal A. Hand skin temperature: a usability for health care services Conference of open innovation association. *FRUCT*. 2016; September, art. no. 7561509:60-65. doi:10.1109/FRUCT-ISPIT.2016.7561509.

12. Вариабельность сердечного ритма: стандарты измерения, интерпретации, клинического использования: доклад рабочей группы Европейского общества кардиологии и Североамериканского общества кардиостимуляции и электрофизиологии. *Вестник аритмологии*, 1999;11:52-77.

13. Johnson J. M., Kellogg D. L. Jr. Skin vasoconstriction as a heat conservation thermoeffector. *Handb Clin Neurol*. 2018;156:175-192. doi:10.1016/B978-0-444-63912-7.00011-4.

14. Tansey E. A., Johnson C. D. Recent advances in thermoregulation. *Adv Physiol Educ*. 2015;39(3):139-148. doi:10.1152/advan.00126.2014

15. Barua R. S., Ambrose J. A., Eales-Reynolds L. J., DeVoe M. C., Zervas J. G., Saha D. C. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium dependent vasodilatation. *Circulation*. 2001;104(16):1905. doi:10.1161/hc4101.097525.

16. Kondo T., Nakano Y., Adachi S., Murohara T. Effects of Tobacco Smoking on Cardiovascular Disease. *Circ J*. 2019;83(10):1980-1985. doi:10.1253/circj.CJ-19-0323.

17. Сиротин Б. З., Корнеева Н. В., Явная И. К. Сосудистые эффекты острого курения: роль видеобиомикроскопии конъюнктивы в изучении реакций микроциркуляции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2019;18(2):41-48. doi:10.24884/1682-6655-2019-18-2-41-48

REFERENCES

1. West R. Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychol Health*. 2017;32(8):1018-1036. doi:10.1080/08870446.2017.1325890.

2. Gambaryan M., Reeves A., Deev A., Popovich M., Drapkina O., Snell A., Stuckler D., Mauer-Stender K., Mikkelsen B., Boytsov S. Effects of tobacco control policy on cardiovascular morbidity and mortality in Russia. *Eur J Public Health*. 2018;28(suppl_2):14-16. doi:10.1093/eurpub/cky148

3. WHO. Tobacco control in the Russian Federation. Available at: https://www.who.int/tobacco/surveillance/policy/country_profile/rus.pdf?ua=1. Accessed September, 11.2020.

4. Antonova N. L. Student youth: behavioral health risks. *Diskussija*. 2015;2(54):840-88. (In Russ).

5. Gerasimova L., Fedosova A. Characteristics of the autonomic regulation in humans with different susceptibility to cold. *Human Physiology*. 2016;42(2):228-233. doi:10.1134/S0362119715060031. (In Russ).

6. Berlogina S. Yu., Gerasimova L. I., Autonomic regulation of the circulatory system in patients in the early recovery period of the ischemic hemodynamic stroke. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011;10-3:477-80. (In Russ).

7. Gerasimova-Meigal L. I., Sirenev I. M. Cold-induced reactivity in patients with multiple sclerosis. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2017;61(3):56-62. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.56-62. (In Russ)

8. Etter J. F., Duc T. V., Perneger T. V. Validity of the Fagerström test for nicotine dependence and of the Heaviness of Smoking Index among relatively light smokers. *Addiction*. 1999;94(2):269-281. doi:10.1046/j.1360-0443.1999.94226910.x

9. Shapovalova T. G., Rjabova A. Ju., Plastinina E. S., Ponomareva O. A., Shelobanova N. V., Shashina M. M., Zakirova V. B. Chronic obstructive pulmonary disease in cardiac patients: problems of diagnosis and treatment. *Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny*. 2016;9(1):79-83. doi:10.20969/vskm.2016.9(1).79-83. (In Russ).

10. Vejn A. M. ed. Autonomic disorders: clinical diagnosis, treatment. M. M.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2003. (In Russ).

11. Gerasimova-Meigal L., Fedosova A., Meigal A. Hand skin temperature: a usability for health care services Conference of open innovation association, *FRUCT*.

2016;September, art. no. 7561509:60-65. doi:10.1109/FRUCT-ISPIT.2016.7561509.

12. Heart rate variability: standards for measurement, interpretation, clinical use: report of the working group of the European Society of Cardiology and the North American Society of cardiac stimulation and electrophysiology. *Vestnik aritmologii*. 1999;11:52-77. (In Russ).

13. Johnson J. M., Kellogg D. L. Jr. Skin vasoconstriction as a heat conservation thermoeffector. *Handb Clin Neurol*. 2018;156:175-192. doi:10.1016/B978-0-444-63912-7.00011-4.

14. Tansey E. A., Johnson C. D. Recent advances in thermoregulation. *Adv Physiol Educ*. 2015;39(3):139-148. doi:10.1152/advan.00126.2014

15. Barua R. S., Ambrose J. A., Eales-Reynolds L. J., DeVoe M. C., Zervas J. G., Saha D. C. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation*. 2001;104(16):1905. doi:10.1161/hc4101.097525.

16. Kondo T, Nakano Y, Adachi S, Murohara T. Effects of Tobacco Smoking on Cardiovascular Disease. *Circ J*. 2019;83(10):1980-1985. doi:10.1253/circj.CJ-19-0323.

17. Sirotin B. Z., Korneeva N. V., Javnaja I. K. Vascular effects of acute smoking: the role of conjunctival video biomicroscopy in the study of microcirculation reactions. *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija*. 2019;18(2):41–48. doi:10.24884/1682-6655-2019-18-2-41-48. (In Russ).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИМПЛАНТАТА ИЗ НИКЕЛИДА ТИТАНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Геренг Е. А., Весир И. Р., Ключина Т. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Московский тракт, 2, Томск, Россия

Для корреспонденции: Геренг Елена Андреевна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, e-mail: e-gereng@mail.ru

For correspondence: Gereng Elena A., MD, associate Professor, Professor of Department morphology and General pathology, Siberian state medical University, e-mail: e-gereng@mail.ru

Information about authors:

Геренг Е. А., <http://orcid.org/0000-0001-7226-0328>

Весир И. Р., <http://orcid.org/0000-0001-9783-0817>

Ключина Т. С., <https://orcid.org/0000-0003-3206-7800>

РЕЗЮМЕ

Развитие медицины в мире в настоящее время связано, в основном, с технологиями регенеративной медицины. Актуальным является изучение регенеративных процессов в печени под влиянием различных факторов. Широко применяются в хирургии никелид титановые имплантаты с памятью формы.

В последнее время в самых различных областях медицины также используются в качестве имплантационных материалов пористые сплавы на основе никелида титана. Они биологически совместимы, проявляют гистерезисные свойства, проницаемы для биологических тканей, что принципиально важно для разработки методик клеточной и регенеративной медицины.

В экспериментальном исследовании изучены изменения в паренхиме печени при применении клипсы для пережатия паренхиматозных органов и при использовании пористого имплантата. Изучена возможность направленной регенерации печени при применении пористого имплантата. Объектом исследования явились лабораторные крысы со здоровой печенью. Животные были оперированы с наложением на печень данных имплантатов. Изменения в печени изучались через 30 дней после операции путем гистологического исследования различных ее участков с оценкой дистрофических и пролиферативных процессов в паренхиме печени.

В результате исследования установлено, что импланты из никелида титана обладают биоинертным состоянием. Волнообразно развитая структура браншей клипсы обеспечивает пониженное удельное давление на защемляемую ткань и, тем самым, ее травмобезопасность, а компрессия при защемлении маргинального участка органа осуществляется мягко, без ранения, и приводит к плавному снижению трофики и атрофии ткани этого участка. Более выраженная атрофия сопровождалась усилением процессов регенерации, что сопровождалось гипертрофией гепатоцитов, увеличением их ядер и полиплоидизацией печеночных клеток.

Ключевые слова: печень, регенерация, никелид титана.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF LIVER REGENERATION WHEN USING THE IMPLANT MADE OF TITANIUM NICKELIDE (EXPERIMENTAL STUDY)

Gereng E. A., Vesir I. R., Kliushina T. S.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

SUMMARY

The development of medicine all over the world is currently mainly associated with regenerative medicine technologies. The study of regenerative processes in liver under the influence of various factors is relevant. Nickel-titanium implants with shape memory are widely used in surgery. Recently, porous alloys based on titanium nickelide have also been used as implantation materials in various fields of medicine. They are biologically compatible, exhibit hysteresis properties, and are permeable to biological tissues, which is essential for the development of cell and regenerative medicine techniques. In an experimental study, changes in the liver parenchyma were studied when using a clip for clamping parenchymal organs and when using a porous implant.

The possibility of targeted liver regeneration using a porous implant was studied. The object of the study was laboratory rats with healthy livers. The animals were operated with these implants applied to the liver. Changes in the liver were studied for 30 days after surgery by histological examination of various parts of it with an assessment of dystrophic and proliferative processes in the liver parenchyma. The study found that implants of titanium nickelide possess the bioinert condition. The undulating structure of the branch clip provides a reduced specific pressure on the pinched tissue and, thus, its injury safety, and compression when pinching the marginal part of the organ is carried out gently, without injury, and leads to a smooth decrease in trophic and atrophy of the tissue of this area. More pronounced atro-

phy was accompanied by increased regeneration processes, which was accompanied by hypertrophy of hepatocytes, an increase in their nuclei and polyploidization of liver cells.

Key words: liver, regeneration, titanium nickelide.

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) цирроз печени (ЦП) – это диффузный процесс, характеризующийся фиброзом и изменением нормальной структуры печени с образованием узлов. ЦП является терминальной стадией таких хронических заболеваний как вирусный гепатит В или С, алкогольная болезнь печени, неалкогольная жировая болезнь печени и др. [1; 3]. Широкий спектр фармакологических препаратов не позволяет достичь длительной ремиссии процесса, а высокая смертность при данной нозологии связана с развитием осложнений. Для улучшения качества и продление жизни пациентов применяются различные паллиативные хирургические вмешательства. Самым радикальным методом лечения является трансплантация печени, которая имеет множество ограничений в виде нехватки доноров, операционного риска, высокой стоимости, иммунного ответа на трансплантат и др. Одновременно с оптимизацией методов хирургической коррекции осложнений цирроза печени продолжается поиск различных современных способов стимуляции регенерации печени [5; 7; 8; 10]. В современной хирургической практике существуют множество способов стимуляции регенерации печени, большинство из которых является достаточно травматичными, дорогостоящими, а положительный эффект от их введения кратковременный [8; 9]. Поэтому поиск наиболее эффективных и малотравматичных методов стимуляции регенерации паренхимы печени остается актуальным.

В настоящее время существует множество биосовместимых сверхэластичных материалов с памятью формы, благодаря которым возникло принципиально новое поколение медицинской техники и технологий. Материалы и имплантаты с памятью формы, созданные на основе никелида титана, способны функционировать в организме длительное время, эластично реагировать на изменение формы тканей органов, не деградировать после многократного воздействия [10].

Цель работы: изучили влияние на функциональную морфологию здоровой и цирротически измененной печени различных клипс и бранш для пережатия паренхиматозных органов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проводили на 15 лабораторных крысах-самках линии Вистар массой тела 180–250 г, оперированных под ингаляционным изофлурановым наркозом.

Эксперименты с участием животных выполнены в соответствии с положениями Федерального Закона «О защите животных от жестокого обращения», введенного в действие 01.01.1997 и Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или других научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.) [9]. Пяти крысам была выполнена лапаротомия, фиксация пористого имплантата к печени. Для имплантации использовали пористые имплантаты из никелида титана в виде пластин овальной формы диаметром 0,5 см, толщиной 0,5–0,8 мм, предварительно стерилизованные в 96°-м спирте. Место наложения имплантата тщательно протирали грубым марлевым шариком для десерозирования поверхности. На десерозированный участок печени накладывали и плотно прижимали пористый имплантат. Дополнительную его фиксацию швами не производили, поскольку за счет шероховатого рельефа поверхности имплантата происходила его самофиксация. Рану послойно ушивали наглухо.

Другим пяти крысам на одну из долей печени была наложена клипса для пережатия паренхиматозных органов. Клипса содержит две дугообразные параллельные бранши из сплава на основе никелида титана с эффектами памяти формы и сверхэластичности, сомкнутые по всей длине (расстояние между браншами в средней части – 2 мм), соединенные по обоим концам. Бранши имеют форму идентичных гнутых в виде меандра периодических структур, ориентированных плоскостями волн симметрично плоскости дуги клипсы. Максимальное давление P , измеренное на потенциометре, составило $0,08 \times 10^{-6}$ н/м². Характеристики отдельной клипсы: длина – 40 мм, амплитуда волн браншей – 5 мм, количество волн – 14, диаметр никелид титановой проволоки марки ТН-10 – 0,8 мм. При наложении устройства использован термомеханический эффект памяти формы. Для этого при температуре около 0 °С бранши клипсы из сомкнутого состояния раскрывались на угол 30–40° и удерживались после наложения на краевом участке печени до ее возвратной деформации и защемляющей фиксации в течение 1–2 мин.

Контрольная группа была сформирована из пяти ложнооперированных животных.

Через 30 дней животные выводились из эксперимента путем гильотинной декапитации под наркозом.

Для микроскопического исследования забирали пористый имплантат с фиксированным к

нему участком ткани. Комплекс ткань-имплантат фиксировали 24–48 ч в 12%-м растворе формалина. Гистологическому исследованию подвергалась доля печени, к которой фиксировался имплантат, и интактная доля.

У крыс с применением компрессирующей клипсы были взяты ткани с «зажатого» участка, из «свободного» участка доли печени, подверженной наложению клипсы, и ткань одной из интактных долей. В контрольной группе из печени каждого животного было взято по одному произвольному образцу ткани. Гистологические препараты проводили по стандартной схеме, заливали в парафин и окрашивали гематоксилином-эозином. При морфометрическом исследовании в гистологическом препарате подсчитывались следующие параметры: удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), удельный объем двуядерных гепатоцитов ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), плотность клеточного инфильтрата (в 1 мм^2), удельный объем соединительной ткани ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$). Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере в среде Microsoft Windows 7 с помощью программы SPSS Statistica 21. с использованием непараметрического – критерий Краскала–Уоллиса. Численные параметры представляли в виде медианы и интерквартильного разброса. Различия считали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Закономерности прорастания биологической тканью каверн пористого имплантата позволяют утверждать, что на 30-е сутки в порах имплантата определяются участки биологической ткани, не имеющие сходства с тканью печени, заполняющие просвет пор на 35–40%. Свободная часть пор имплантата пропитана тканевой жидкостью. Гистологическое исследование содержимого пор имплантата свидетельствует о преобладании в тканевом «ростке» фибробластов, макрофагов, коллагеновых волокон. В гистологическом препарате достаточно много кровеносных сосудов.

Особенности строения клипсы для пережатия паренхиматозных органов позволяют производить на паренхиму печени дозированное давление во избежание полного пережатия и прорезывания ткани. Компрессия при защемлении краевого участка органа осуществляется мягко, без ранения, и приводит к плавному снижению трофики и атрофии ткани этого участка.

При исследовании гистологических препаратов в группе крыс при использовании клипсы наблюдались следующие изменения. В отжатом участке печени структура печеночной ткани была несколько нарушена, атрофирована, что со-

провождалось статистически значимым ($p < 0,05$) увеличением удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии $6,25 (3,57-9,25) \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ (в контрольной группе $2,38 (1,43-4,25)$). При этом среди гепатоцитов статистически значимо ($p \leq 0,05$) был увеличен удельный объем двуядерных гепатоцитов – $55,00 (43,25-68,93)$ (в контроле $3,16 (2,11-4,23)$). В не зажатой части доли печени, подвергшейся компрессии, также обнаружено увеличение содержания гепатоцитов и количества диплоидных гепатоцитов. Удельный объем двуядерных гепатоцитов составил $68,41 (20,47-43,55) \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ ($p \leq 0,05$). Подобные изменения отмечались также в ткани отдаленных долей печени, но менее выраженные. При этом удельный объем двуядерных гепатоцитов составил $14,29 (18,73-27,44) \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ ($p \leq 0,05$ при сравнении с контрольной группой).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обеих экспериментальных группах было установлено биоинертное состояние имплантатов из никелида титана, отсутствие в гистологических препаратах воспалительной реакции и других признаков биологического отторжения. При применении пористых имплантатов признаков регенерации в печени не выявлено. Фрагменты новообразованной печеночной ткани в порах имплантатов отсутствуют, что делает невозможным их применение в качестве матрицы направленной регенерации печени. В сравнении с пористым имплантатом, применение компрессирующей клипсы оптимизирует репаративные процессы в печени, что требует дальнейших исследований влияния компрессирующих устройств на регенеративные процессы в печени, в частности, на фоне различных ее патологических состояний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Готье С. В. Трансплантология XXI века: высокие технологии в медицине и инновации в биомедицинской науке. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2017;19(3):10–32. doi:10.15825/19951191-2017-3-10-32.
2. Красовский В. С. Изменение общего белка в гепатоцитах крыс на 3 сутки после механической травмы. Фундаментальные исследования. 2013;(9):62–64.
3. Пикиреня И. И., Земляник А. Н., Хомченко В. В. Возможность регенерации печени у экспериментальных животных с индуцированным циррозом при воздействии пространственно модулированного излучения эрбиевого лазера. Новости хирургии. 2015;23(2):131–137.
4. Лепехова С. А., Зарицкая Л. В., Батунова Е. В. Влияние однократного введения экзогенного фактора роста гепатоцитов на показатели неспецифиче-

ской резистентности в условиях пострезекционного повреждения печени. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2016;1(107):49–55.

5. Fiegel H. C., Kaufmann P. M., Bruns H., Kluth D., Horch R. E., Vacanti J. P., Kneser U. Hepatic tissue engineering: from transplantation to customized cell-based liver directed therapies from the laboratory. *J. Cell Mol. Med.* 2008;12(1):56–66. doi:10.1111/j.1582-4934.2007.00162.x

6. Weber A., Groyer-Picard M.T., Franco D., Dagher I. Hepatocyte transplantation in animal models. *Liver Transpl.* 2009;15(1):7–14. doi: 10.1002/lt.21670.

7. Гюнтер В. Э. Направления создания уникальных технологий в медицине на основе нового поколения биосовместимых материалов и имплантатов с памятью формы. *Имплантаты с памятью формы.* 2017;1-2:5-10.

8. Дамбаев Г. Ц., Соловьев М. М., Фатюшина О. А. Использование устройств из никелида титана в абдоминальной хирургии. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии.* 2017;20(1(60)):53-56.

9. Моногенов А. Н., Ходоренко В. Н., Гюнтер В. Э. Структура, проницаемость и прочностные свойства пористых сплавов на основе никелида титана с добавками алюминия. *Письма в Журнал технической физики.* 2014;40(18):102-110.

10. Fiegel H. C., Kneser U., Kluth D. Development of hepatic tissue engineering. *Pediatr Surg Int.* 2009; 25:667–673. doi: 10.1007/s00383-009-2389-8

REFERENCES

1. Got'ye S. V. Transplantology of the 21st century: High technologies in medicine and innovations in biomedical science. *Vestnik Transplantologii i Iskusstvennykh Organov – Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2017;19(3):10–32. doi:10.15825/1995-1191-2017-3-10-32. (In Russ.).

2. Krasovskiy V. S. The change of the total protein in rat hepatocytes on the 3rd day after mechanical trauma. *Fundamental'nyye issledovaniya – Fundamental Research.* 2013;9:62–64. (In Russ.).

3. Pikirenya I. I., Zemlyanik A. N., Khomchenko V. V. The possibility of liver regeneration in experimental animals with induced cirrhosis when exposed to spatially modulated radiation from an erbium laser. *Novosti Khirurgii.* 2015;23(2):131–137. (In Russ.).

4. Lepekhova S. A., Zaritskaya L. V., Batunova Ye. V. The effect of a single injection of exogenous hepatocyte growth factor on indicators of nonspecific resistance in conditions of postresection liver damage. *Byulleten VSNTS SO RAMN.* 2016;1(107):49–55. (In Russ.).

5. Fiegel H. C., Kaufmann P. M., Bruns H., Kluth D., Horch R. E., Vacanti J. P., Kneser U. Hepatic tissue engineering: from transplantation to customized cell-based liver directed therapies from the laboratory. *J. Cell Mol. Med.* 2008;12(1):56–66. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2007.00162.x

6. Weber A., Groyer-Picard M.T., Franco D., Dagher I. Hepatocyte transplantation in animal models. *Liver Transpl.* 2009;15(1):7–14. doi: 10.1002/lt.21670

7. Gyunter V. E. Directions for creating unique technologies in medicine based on a new generation of biocompatible materials and shape memory implants]. *Implantaty s pamyat'yu formy.* 2017;1-2:5–10. (In Russ.).

8. Dambayev G. Ts., Soloviev M. M., Fatyushina O. A. Using TiNi devices in abdominal surgery – Issues of Reconstructive and Plastic Surgery. 2017;20(1(60)):53-56 (In Russ.).

9. Monogenov A. N., Khodorenko V. N., Gyunter V. E. Structure, permeability and strength properties of porous alloys based on titanium nickelide with aluminum additives. *Pis'ma v ZHTF.* 2014;40(18):102-110 (In Russ.).

10. Fiegel H. C., Kneser U., Kluth D. Development of hepatic tissue engineering. *Pediatr Surg Int.* 2009; 25:667–673. doi: 10.1007/s00383-009-2389-8

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ВТОРИЧНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

Голубинская Е. П., Филоненко Т. Г., Ермола Ю. А., Геращенко А. В., Кубышкин А. В.,

Кальфа М. А., Крамарь Т. В.

Кафедра патологической анатомии с секционным курсом, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Голубинская Елена Петровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: missive@mail.ru

For correspondence: Golubinskaya Elena P., PhD, Leading Researcher at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: missive@mail.ru

Information about authors:

Elena P. G., <https://orcid.org/0000-0003-3917-924X>

Filonenko T. G., <https://orcid.org/0000-0002-4674-7391>

Kubyshkin A. V., <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Yermola Y. A., <https://orcid.org/0000-0003-4474-3714>

Kalfa M. A., <https://orcid.org/0000-0002-7179-3402>

Kramar T. V., <https://orcid.org/0000-0003-2632-0451>

РЕЗЮМЕ

Туберкулез (ТБ) является социально-значимым заболеванием для всего мирового сообщества. Важной проблемой в успешной борьбе с данной инфекцией является лавинообразное увеличение случаев туберкулеза с лекарственной устойчивостью. В условиях туберкулеза легких (ТЛ) значимая роль отводится комбинации этиологических и патогенетических факторов, приводящих к значительным расстройством клеточных иммунных реакций в ответ на стимуляцию возбудителем с последующим развитием вторичной иммунологической недостаточности (ВИН), характерной для данной патологии.

На сегодняшний день остаются неразрешенными вопросы нарушения кооперативных взаимодействий местного клеточного иммунного ответа легких, приводящей к слабой активации Т-клеточного звена, а также несостоятельности В-клеточного иммунитета, снижению пролиферативной активности клеток лимфоидного ряда и активации апоптоза, цитокинового дисбаланса и активации иммуносупрессорных механизмов, что препятствует полноценному пониманию единой картины патологического процесса.

Целью исследования являлось определение иммунофенотипических особенностей популяции лимфоцитов в фрагментах ткани легких пациентов с различными формами вторичного туберкулеза в зависимости от резистентности на примере фиброзно-кавернозного туберкулеза (ФКТ).

Материалом исследования являлись участки ткани легких 30 больных с подтвержденным диагнозом ФКТ, распределенные в 2 основные группы: с наличием лекарственной устойчивости (n=15) и 15 пациентов с нерезистентными формами ФКТ. Было проведено стандартное гистологическое исследование. Иммуногистохимическая панель маркеров включала CD68, CD4, CD8, CD20, CD138.

Исследования проведены в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С. И. Георгиевского в рамках поддержанного ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» гранта № ВГ09/2019.

В результате исследования установлено, что в условиях вторичного туберкулеза независимо от резистентности определяется формирование локального иммунодефицита с иммунным ответом по Th-2 пути.

Преобладание цитотоксических лимфоцитов в зоне специфической грануляционной ткани и дренирующего бронха индуцирует о пролонгации воспаления и переводе его в латентную фазу.

Увеличение количества Т-хелперов, а также активированных лимфоцитарных плазмочитов может являться достоверным прогностическим и диагностическим критерием реактивации туберкулезного процесса.

Ключевые слова: патогенез, туберкулез, CD4 позитивные Т лимфоциты, CD8 позитивные Т лимфоциты, В лимфоциты, плазматические клетки, иммуногистохимия.

NON-SPECIFIC IMMUNOLOGICAL RESISTANCE IN DIFFERENT FORMS OF SECONDARY TUBERCULOSIS

Golubinskaya E. P., Filonenko T. G., Yermola Yu. A., Gerachenko A. V., Kubyshkin A. V.,
Kalfa M. A., Kramar T. V.

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

Tuberculosis (TB) is a socially significant disease for the entire world community. An important challenge in suc-

cessfully combating this infection is the avalanche increase in the number of drug-resistant tuberculosis. Currently, among the reasons for the development of pulmonary tuberculosis, a complex of etiological and pathogenic factors contributing to the disruption of the immune response to *M. tuberculosis* and the formation of secondary immunological failure (SIF) accompanying the disease are of particular importance.

However, the issues of discoordination of cellular components of the local immune system of the lungs leading to T-cell deficiency, as well as the ineffectiveness of the B-cell link, reduction of lymphocyte proliferative activity and activation of apoptosis, cytokine imbalance and activation of immunosuppression mechanisms are not fully studied and have a scattered nature, which does not allow us to assess the overall picture of violations.

The goal: determining the immunophenotype of lymphocyte population in lung tissue biopsy specimens of patients with various forms of secondary tuberculosis depending on resistance in case fibrosecavernous tuberculosis (FCT).

The material in the study was pulmonary tissue fragments of 30 patients with the verified diagnosis of FCT, and distributed in 2 main groups: resistant forms of secondary tuberculosis (n = 15) and 15 patients not resistant forms of secondary tuberculosis. The standard histological method was used. Immunohistochemically panel of markers included CD68, CD4, CD8, CD20, CD138.

The study was conducted at the Center for the collective use of scientific equipment «Molecular Biology» of the Medical Academy named after S.I. Georgievsky in the framework of the grant № ВГ 09/2019, supported by federal state autonomous educational institution of higher education «V.I. Vernadsky Crimean Federal University».

The results of the study have shown that in the conditions of secondary tuberculosis, regardless of resistance, the formation of local immunodeficiency with an immune response along the Th-2 pathway is determined.

The prevalence of cytotoxic lymphocytes in the area of specific granulation tissue and the draining bronchus indicated the prolongation of inflammation and its transfer to the latent phase.

The increase in the number of T-helpers and activated plasma cells can serve a reliable prognostic and diagnostic marker for the reactivation of the tuberculosis process.

Key words: pathogenesis, tuberculosis, CD4 positive T lymphocytes, CD8 positive T lymphocytes, lymphocytes, plasma cells, immunohistochemistry

Туберкулез (ТБ) является социально-значимым заболеванием для всего мирового сообщества. Важной проблемой в успешной борьбе с данной инфекцией является лавинообразное увеличение случаев туберкулеза с лекарственной устойчивостью. В условиях туберкулеза легких (ТЛ) значимая роль отводится комбинации этиологических и патогенетических факторов, приводящих к значительным расстройствам клеточных иммунных реакций в ответ на стимуляцию возбудителем, с последующим развитием вторичной иммунологической недостаточности (ВИН), характерной для данной патологии. Значительное положение в данном процессе занимают свойства *M. tuberculosis*, а именно вирулентность, контагиозность, резистентность и т.д. [1; 2; 3].

Феномен резистентности к химиотерапии обусловлен совокупностью факторов, к которым относятся устойчивость и изменчивость непосредственно самой *M. tuberculosis*, в результате чего вынужденно применяются, что требует применения высоких, иногда токсических доз лекарственных препаратов, доставка которых к патологическим очагам затруднительна из-за разрастания грубоволокнистой соединительной ткани [2; 4; 16].

Наиболее часто лекарственная устойчивость определяется у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулезом (ФКТ), для которого характерно формирование выраженной соединительнотканной капсулы. В соответствии с данными ВОЗ, именно ФКТ характеризуется высокой летальностью, достигающей 75-80% [3; 5].

Установлено, что для инициации процесса перепрограммирования макрофагов, активированных Т-лимфоцитами хелперами 2 типа, немаловажную роль играет преобразования микроокружения в очагах специфического воспаления. К сожалению, вопросы клеточных взаимодействий клеток иммунного ряда, в том числе и клеточных компонентов системы местной защиты легких, в результате чего происходит формирование Т-клеточного дефицита с реактивной неэффективностью В-клеточного звена, нарушение процессов дифференцировки лимфоцитов и интенсификация апоптоза, формирование иммуносупрессии, остаются малоизучены, а результаты исследований имеют неоднозначный характер, приводя к трудностям в оценке общей картины патологического процесса. [4; 6; 7].

Цель исследования - определение иммунофенотипа популяции лимфоцитов в биоптатах ткани легких пациентов с различными формами вторичного туберкулеза в зависимости от резистентности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования являлись резецированные участки легких 30 больных с верифицированным диагнозом вторичный туберкулез, а именно ФКТ, распределенные в 2 основные группы: туберкулез с лекарственной устойчивостью (ЛУ-ТБ) (n=15) и 15 пациентов с вторичным туберкулезом, получающих стандартное лечение с клинически подтвержденной положительной динамикой.

В качестве контроля (К) использовались резецированные фрагменты легочной ткани 30 больных, умерших от патологии, не связанной с патологией дыхательной системы (диффузный кардиосклероз, ХПН и т. д.).

Для исследования были отобраны пациенты с наличием подтвержденных данных о наличии/отсутствии химиорезистентности, отрицательных клинико-лабораторных данных наличия коморбидной патологии (вирусных гепатитов В, С и ВИЧ), обострения хронических заболеваний других органов и систем, информированное согласие.

Гистологическое исследование резецированных фрагментов легких из очага специфического воспаления и макроскопически интактной лёгочной ткани проводилось по стандартной методике. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводили согласно стандартизированной методике с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 4 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые полизином («Menzel-Glaser», Германия) и реактивов компании DAKO [8. С. 960]. Панель маркеров лимфоидного звена клеточного иммунного ответа включала: CD8 маркер цитотоксических Т-лимфоцитов (clone C8/144В, monoclonal mouse, разводение 1:50, DAKO, Дания), CD4 – Т-хелперов 1 типа (clone 4В12, monoclonal mouse, разводение 1:50, DAKO, Дания), CD20 – В-лимфоцитов (clone L26, monoclonal mouse, Ready-to-use, DAKO, Дания) и CD138 – маркер синдекан-1, при мембранной экспрессии характеризует активированные плазматические клетки (clone М1 15, monoclonal mouse, Ready-to-use, DAKO, Дания). Визуализация макрофагов осуществлялась маркером CD68 (clone KP1, monoclonal mouse, Ready-to-use, DAKO, Дания). Для постановки реакции с маркерами использовали протокол окрашивания, рекомендованный производителем. Система визуализации Novocastra Novolink™ на основе компактного полимера Novolink Compact Polymer™ (Leica, Германия) на иммуногистостейнере BondMax (Leica, Германия). С целью контроля адекватности реакций была проведена серия исследований с использованием позитивных (миндалины) и негативных образцов (жировая ткань), которые служили эталонами.

Последующая морфометрия полученных данных проводилась с помощью лицензионного программного обеспечения ImageJ в стандартизированной площади фото цифрового изображения гистологического среза, полученного в фотокамере OLYMPUS C5050Z («Olympus», Япония) микроскопа OLYMPUS CX41 («Olympus», Япония) при увеличении

x200 (числовая апертура – 0,65; рабочее расстояние – 0,6 мм).

Статистический анализ данных выполнен с использованием программного пакета Statistica for Microsoft Windows, version 10.0. StatSoft Inc., США. Данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, а SD – стандартное отклонение. Были составлены статистические ряды, нормальность распределения определяли с использованием критерия Эппса-Палли. Оценка статистической значимости различий сравниваемых величин двух независимых групп проводилась при помощи двух выборочного критерия Стьюдента. Критический уровень значимости различий между группами был принят равным $p = < 0,05$. Достоверность различий сравниваемых величин определяли с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни при уровне значимости $\alpha = 5\%$. Для оценки статистической взаимосвязи высчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

Морфологические исследования проведены в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология» Медицинской академии им. С. И. Георгиевского в рамках поддержанного ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» гранта № ВГ 09/2019 (НИ-ОКР «Особенности транскрипционных факторов в иммунорегуляции при ВИЧ-сочетанном туберкулезе», № государственной регистрации АААА-А19-119122390054-9).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для более точной оценки иммуноморфологических характеристик фрагментов легочной ткани пациентов с ФКТ было использовано зонирование патологически измененных тканей по отношению к очагу кавернозной деструкции. Все образцы исследуемых тканей характеризовались наличием трехслойной стенки каверны: пиогенный слой (казеозный некроз), слой специфической грануляционной ткани и слой грубоволокнистой соединительной ткани. В перикавернозной зоне отмечались поля дис- и ателектазов и очаги эмфизематозного расширения альвеол.

Зона специфической грануляционной ткани представляла собой густую сеть функционально неполноценных сосудов капиллярного типа с лимфогистиоцитарной инфильтрацией. В группе пациентов с лекарственной устойчивостью непосредственно в прилежащей к пиогенному слою зоне грануляционной ткани определялась выраженная экспрессия CD4 маркера Т-лимфоцитов хелперов ($97,27 \pm 4,81$) (рис.1).

Необходимо отметить, что CD8+ Т-клетки в описанных участках не визуализировались и определялись непосредственно в виде линии

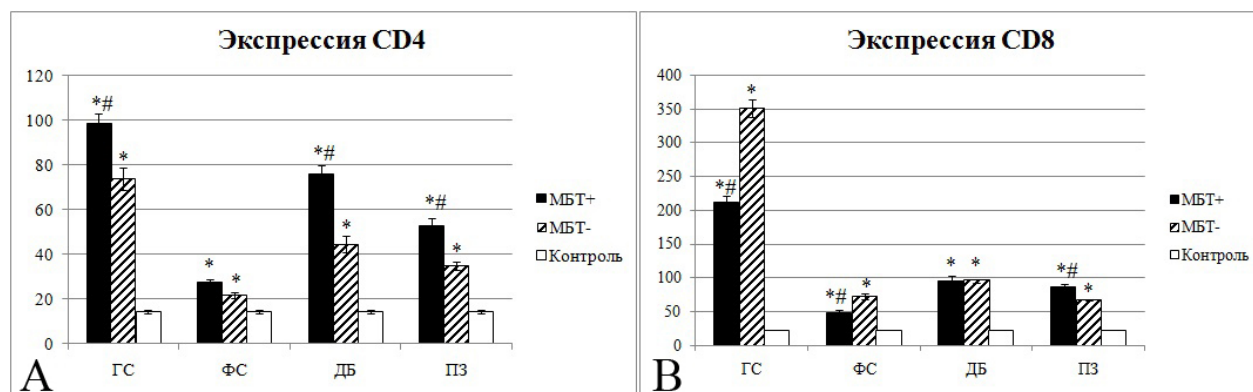


Рис. 1. Количественные характеристики CD4+ лимфоцитов Т-хелперов (А) и CD8+ цитотоксических лимфоцитов (В) в образцах ткани легкого у пациентов с ФКТ. ГС – грануляционный слой, ФС – фиброзный слой, ДБ – дренирующий бронх, ПЗ – перикавернозная зона. * - достоверность различий по отношению к контрольной группе $p < 0,05$; # - достоверность различий между группами МБТ+ и МБТ- $p < 0,05$.

по периферии грануляционного слоя на границе с фиброзной капсулой, окружающей стенку каверны. При сопоставлении количественных соотношений CD4+ и CD8+ клеток в ткани кавернозной полости, определен индекс иммунологической регуляции = $0,21 \pm 0,1$, который достоверно отличался от показателя контрольной группы ($1,5 \pm 0,3$, $p < 0,05$) (рис. 1).

В пиогенном и грануляционном слоях стенки фиброзной каверны ИГХ реакция с маркером В-лимфоцитов продемонстрировала негативное окрашивание. При этом интенсивность экспрес-

сии маркера плазмоцитов имела разнородный характер в зависимости от наличия/отсутствия лекарственной устойчивости.

Максимальное число CD138+ клеток с мембранным окрашиванием определялось в специфической грануляционной ткани, причем в случаях с нерезистентными формами туберкулеза они располагались в максимальной близости к пиогенному слою, а у пациентов с ЛУ-ТБ – перераспределялись к фиброному. Количество плазматических клеток увеличивалось по мере приближения к казеозному некрозу (табл. 1).

Таблица 1

Количественные характеристики CD20+ В-лимфоцитов и CD138+ плазмоцитов в стенке фиброзной каверны пациентов с ФКТ в зависимости от наличия / отсутствия ЛУ

Локализация	CD20			CD138		
	Не резист. (M±SD)	Резист. (M±SD)	К (M±SD)	Не резист. (M±SD)	Резист. (M±SD)	К (M±SD)
Зона грануляционной ткани	0	0	$2,58 \pm 0,15$	$86,52 \pm 6,51^{*#}$	$31,97 \pm 2,17^{*}$	0
Зона фиброзного слоя	$8,97 \pm 0,49^{*}$	$11,09 \pm 0,71^{*}$	$2,49 \pm 0,17$	$23,99 \pm 2,08^{\#}$	$3,41 \pm 0,17^{*}$	0
Зона дренирующего бронха	$17,97 \pm 1,41^{*#}$	$12,97 \pm 0,71^{*}$	$3,01 \pm 0,09$	$12,02 \pm 0,08^{*#}$	$1,21 \pm 0,09$	0
Зона окружающей ткани	$14,01 \pm 1,19^{*}$	$16,96 \pm 0,82^{*}$	$2,63 \pm 0,21$	$31,87 \pm 3,67^{*}$	$38,52 \pm 3,01^{*}$	0

Примечание: * - достоверность различий по отношению к контрольной группе $p < 0,05$; # - достоверность различий между группами МБТ+ и МБТ- $p < 0,05$.

Фиброзный слой каверны – поля разрастания грубоволокнистой соединительной ткани с формированием множества лимфоидных агрегатов со светлыми герминативными центрами. Преобладающим типом клеток в таких структурах являются В-лимфоциты ($56,12 \pm 3,23\%$ позитивных клеток), располагающихся как по периферии, так и в зародышевых центрах (рис. 2А). Важным является малое количество плазмоци-

тов ($3,41 \pm 0,17$), локализующихся по периферии лимфоидных фолликулов, на фоне преобладание зрелых В-лимфоцитов в указанных структурах в группе пациентов с фармрезистентностью ($3,41 \pm 0,17$) (рис. 2В).

В группе больных с нерезистентным ФКТ наблюдалась усиление как мембранной, так и цитоплазматической экспрессии синдекан-1. Количественные показатели CD138+ плазмоци-

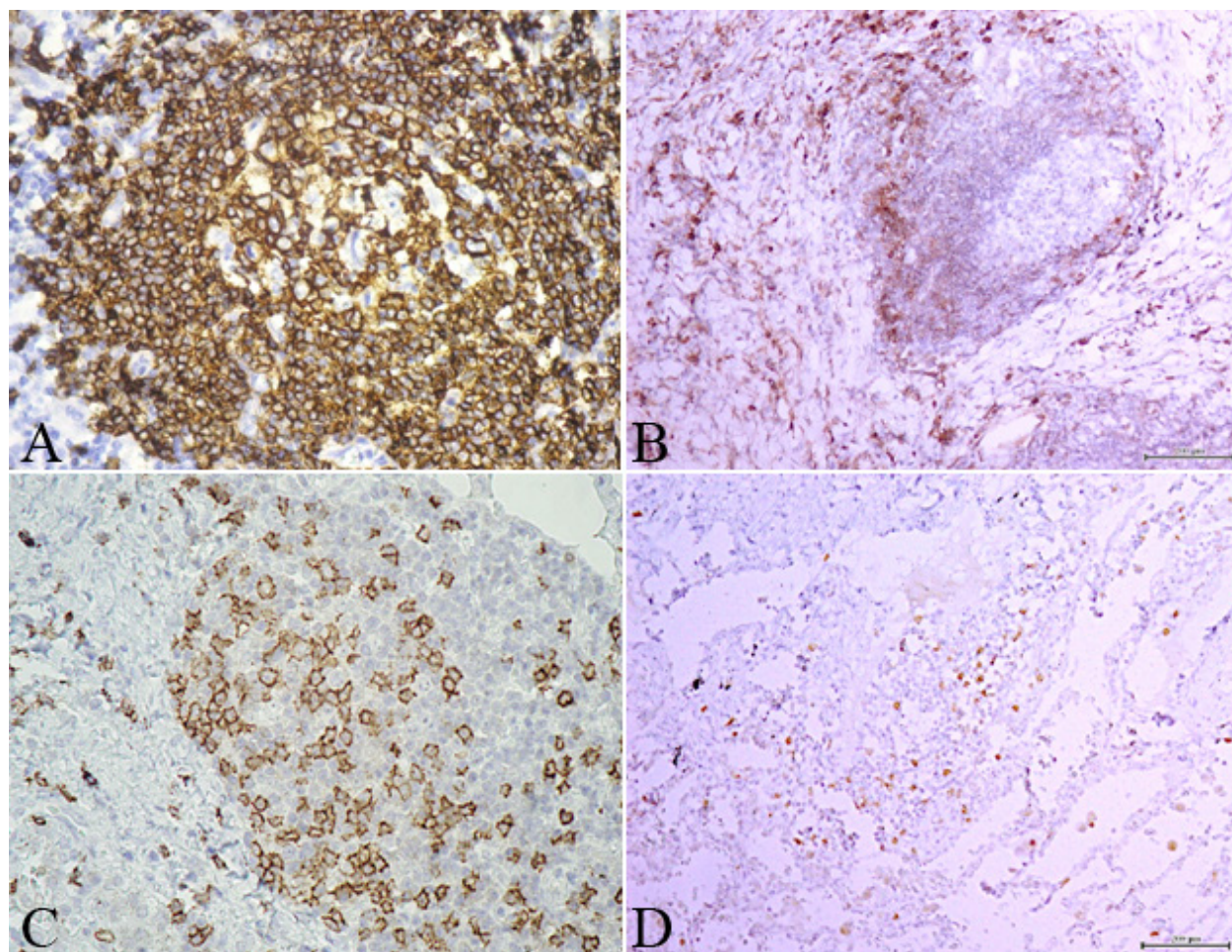


Рис. 2. МБТ- ИГХ. Лимфоидные фолликулы фиброзного слоя каверны.

А – Выраженная мембранная экспрессия маркера CD20+ В-лимфоцитов в лимфоидном фолликуле. Ув. 200. **В** – Мембранная экспрессия маркера CD138+ плазмоцитов в виде «полумесяца» в лимфоидном фолликуле с расширенным герминативным центром. Ув.100. **С** – Мембранная экспрессия маркера CD8+ Т-цитотоксических лимфоцитов в лимфоидном фолликуле. Ув.200. **Д** – Мембранная экспрессия маркера CD4+ Т-лимфоцитов хелперов в лимфоидном фолликуле на границе с перикавернозной зоной. Ув.40.

тов в зоне лимфоидных агрегатов статистически значимо отличалось от показателей группы пациентов с верифицированной резистентностью и составляло $23,99 \pm 2,08$ клетки ($p < 0,05$). Количество CD4+ Т-хелперов было в 2 раза ниже по сравнению с цитотоксическими лимфоцитами ($49,40 \pm 2,69$ и $27,62 \pm 1,33$, соответственно).

В зоне дренирующего бронха также наблюдались выраженные гистологические межгрупповые отличия. При нерезистентных формах туберкулеза просвет бронха заполнен казеозными массами, у пациентов с лекарственной устойчивостью – бронх запустевший либо со слизистым содержимым. При активации туберкулезного процесса с формированием большого количества казеозных масс количество CD4+ клеток в перибронхиальной зоне увеличивается в сравнении с фиброзным слоем, однако цитотоксические лимфоциты являются доминирующей популяцией лимфоидных клеток. Значи-

мое количество CD20+ клеток определялось как в просвете бронха, так и по периферии в виде очаговых скоплений (рис. 3А). Плазматические клетки с позитивным мембранным окрашиванием визуализировались вблизи стенки бронха, располагаясь циркулярно, в виде скоплений (рис. 3В). Важно отметить, что подобная интенсификация экспрессии визуализировалась и в зоне неспецифического панбронхита интактной легочной ткани.

Была выявлена прямая выраженная корреляционная связь между количественными показателями CD8+ цитотоксических лимфоцитов, локализованных в дренирующем бронхе и CD4+ Т-хелперов грануляционной ткани ($R = 0,80$). Между количеством CD8+клеток и CD68+ макрофагами перикавернозной зоны выявлялась обратная взаимосвязь средней силы ($R = 0,63$). По нашему мнению, данные характеристики межклеточных соотношений свидетельствуют

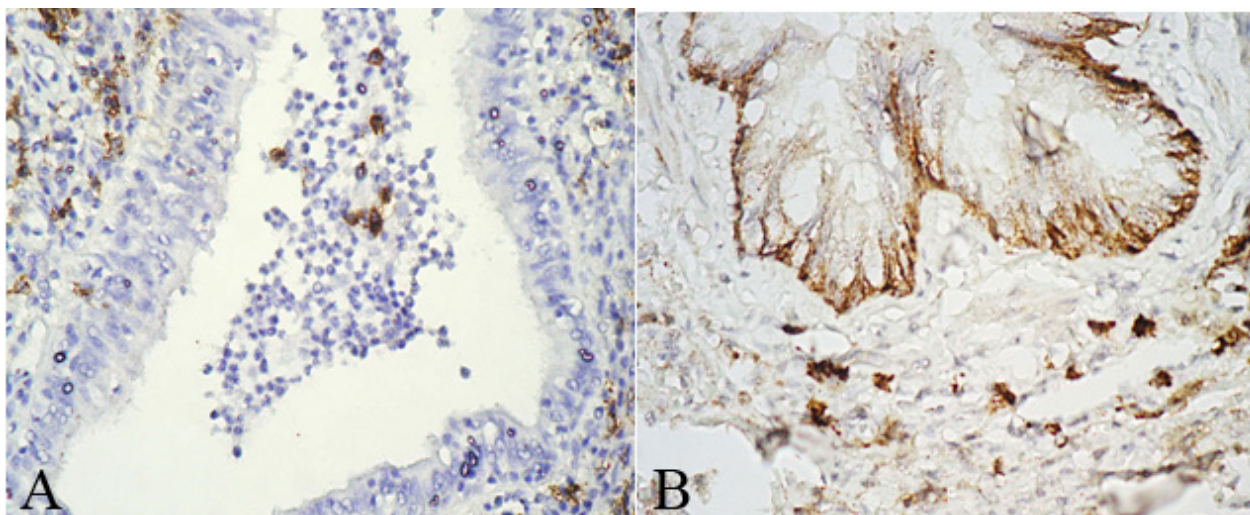


Рис. 3А – МБТ+, ИГХ реакция с маркером CD20. Позитивная мембранная экспрессия В-лимфоцитов в содержимом дренирующего бронха и в перибронхиальной ткани. Ув. 400.

Рис. 3В – МБТ-. ИГХ реакция с маркером CD138. Очаговые перибронхиальные скопления позитивно окрашенных плазмочитов с мембранной экспрессией синдекан-1. Ув. 400.

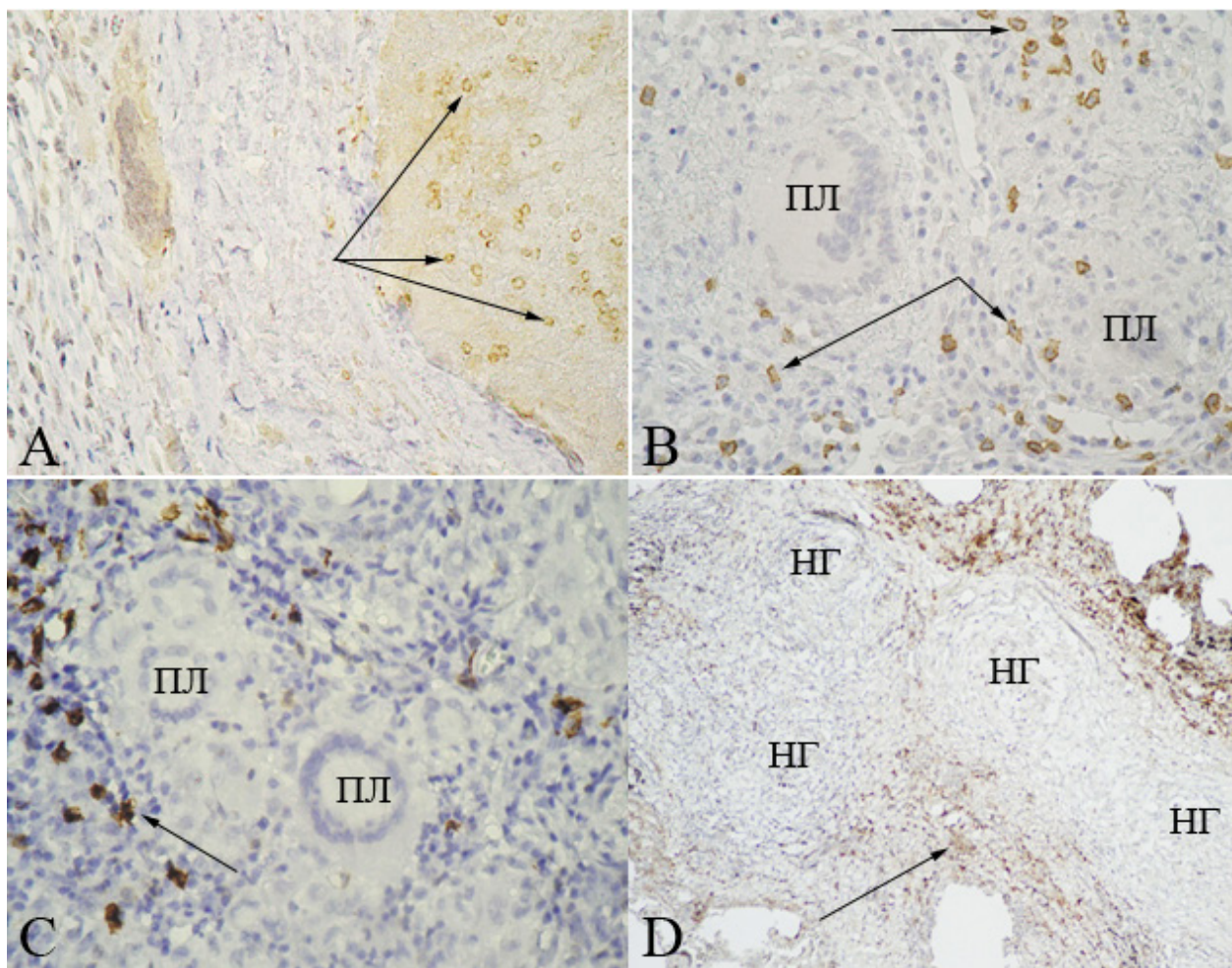


Рисунок 4. МБТ+. ИГХ реакция с маркером CD4 (А), CD8 (В), CD20 (С), CD138 (D).

А – мембранная экспрессия CD4 лимфоцитов в активной гранулеме в центральной зоне казеозного некроза (стрелка). Ув. 400. В – мембранная экспрессия CD8 неактивных гранулемах (стрелка). ПЛ – клетки Пирогова-Лангханса. Ув.400. С – позитивно окрашенные В-лимфоциты с мембранной экспрессией по периферии от неактивной гранулемы (стрелка), центрально расположенные клетки Пирогова-Лангханса (ПЛ). Ув.400. D – неактивные гранулемы (НГ) с отрицательной цитоплазматической и мембранной реакцией синдекан-1. Очаговые скопления CD138+ плазмочитов с мембранной экспрессией по периферии от гранулем (стрелка). Ув.100.

об активации цитотоксических лимфоцитов на фоне значительного увеличения количества CD4+ клеток с целью изолирования иммунного ответа, в результате чего, возможно, происходит прямое цитотоксическое воздействие на CD68+ макрофаги, содержащие возбудитель и дальнейшая стабилизация воспалительного процесса. На фоне этого общее снижение иммунорегуляторного индекса по отношению к контрольной группе свидетельствует о неэффективности иммунного ответа в результате подавления клеточного иммунитета.

Значимым показателем активности туберкулезного воспаления, в том числе и в условиях ФКТ, является корреляция активных и неактивных гранул непосредственно в перикавернозной зоне и окружающей ее легочной ткани.

В процессе исследования нами было установлено статистически значимое повышение количества активных гранул, характеризующихся центрально расположенной зоной казеозного некроза, у пациентов с нерезистентными формами вторичного туберкулеза. У пациентов с верифицированной резистентности в ткани легких преобладали неактивные гранулы, представленные в том числе и с рубцовыми изменениями. Так, в случаях с нерезистентными формами туберкулеза, нами установлено значимое увеличение числа активных гранул, характеризующихся центрально расположенной зоной казеозного некроза. Как активные, так и неактивные гранулы визуализировались в очагах специфического воспаления независимо от наличия лекарственной устойчивости.

Анализ ИГХ реакции с маркерами CD4 и CD8 показал, что количество позитивно окрашенных Т-хелперов увеличилось незначительно и они располагались непосредственно в зоне казеозного некроза (рис.4А). Такими же характеристиками обладал и пиогенный слой кавернозной полости. Основная масса таких лимфоцитов располагалась кольцевидно на границе с окружающими тканями.

Корреляционный анализ позволил установить сильную прямую связь между количеством Т-хелперов в очагах гранулематозного воспаления и количеством цитотоксических лимфоцитов в эмфизематозно расширенных участках перикавернозной зоны ($R=0,83$) и одновременной обратной связи с CD68+ макрофагами в окружающей легочной ткани. По-видимому, выявленные закономерности количественной взаимозависимости клеточных компонентов системы локального иммунитета легких являются следствием цепи каскадных реакций, запускаемых первичным поражением ткани. Только последовательное изменение качественных и количественных

характеристик клеток по зонам воспалительной инфильтрации координирует степень агрессивности течения специфического гранулематозного воспаления, предопределяя в конечном итоге его исход и осложнения.

Независимо от активности гранулы доминирующей популяцией клеток лимфоидного ряда являлись CD8+цитотоксические лимфоциты. Необходимо отметить, что наибольшее количество CD8+клеток определялось в неактивных гранулах. В целом же они располагались по периферии от очагов гранулематозного воспаления (рис. 4В).

При анализе экспрессии маркера CD20 было установлено, что В-лимфоциты локализовались по периферии очага воспаления, циркулярно и являлись стабильной популяцией клеток (рис. 4С). Данный феномен, по-нашему мнению, обоснован изменением количественных характеристик CD138+ плазмочитов в зависимости от стадии развития гранулы.

Так, в участках с неактивными гранулами количество CD138+ клеток составляло $9,3 \pm 0,13$. При этом единичные плазматические клетки локализовались в центральных отделах, преимущественно в рубцующихся гранулах. В остальных гранулах CD138+ плазмочиты располагались очаговыми скоплениями в перигранулематозных областях. Необходимо отметить, что в неактивных гранулах определялась либо слабая цитоплазматическая, либо негативная реакция с маркером, что свидетельствует о стабильности новообразованной соединительной ткани (рис. 4D).

В условиях активного воспаления с преобладанием альтеративных и некробиотических реакций количество плазмочитов с выраженной мембранной экспрессией синдекана-1 возрастало. По нашему мнению, данные изменения свидетельствуют об интенсификации гуморального ответа в ответ на высвобождение большого количества микобактерий.

Легочная ткань вокруг перикавернозной зоны характеризовалась наличием очагов дистелектаза, ателектаза, а также эмфизематозно расширенными альвеолами. В некоторых наблюдениях активного ФКТ определялись фокусы казеозной пневмонией, в которых определялось максимальное количество клеток макрофагального и лимфоцитарного рядов, представленные в основном CD4+ и CD138+ клетками.

Независимо от наличия ЛУ в участках коллабированных альвеол отмечается рост числа клеток с цитоплазматической экспрессией синдекана-1, что свидетельствует о реактивации клеток стромы, в том числе и фибропластического ряда. Подобная реакция говорит о нарастающей функциональной активности этих клеток и прогрессии их способности к коллаген образо-

ванию. В зонах дистелектаза и ателектаза иммунофенотипические особенности популяции клеток лимфоидного ряда по-прежнему свидетельствуют о достоверном преобладании цитотоксических лимфоцитов, действие которых направлено в том числе и на гиперактивированные макрофаги. Иммунорегуляторный индекс $CD4/CD8 = 0,61 \pm 0,01$.

По мере отдаления от кавернозной полости количественные показатели $CD4+$ и $CD8+$ лимфоцитов стабильно снижались, и данные клетки определялись как рассеянные единичные позитивно окрашенные элементы с мембранной экспрессией, а популяция В-лимфоцитов и плазмциты вообще не визуализировались.

ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях вторичного туберкулеза важная роль в стабилизации патологического ответа отводится Т-лимфоцитам. Было определено, что в обеих группах общее количество Т-клеток значительно увеличилось по отношению к группе контроля [9; 11; 12]. Однако, несмотря на высокие количественные показатели, было установлено снижение регуляторного индекса, что свидетельствует о переходе патологического процесса в латентную стадию. Данные показатели свидетельствуют о развитии иммунодефицитного состояния с характерным превалированием Т-киллеров и супрессоров, число которых отличается от показателей Т-хелперов в 5 раз. По нашему мнению, это говорит о неполноценном взаимодействии активированных макрофагов и клеток лимфоидного происхождения на фоне персистенции *M. Tuberculosis*, приводя к дестабилизации иммунных реакций.

Во время анализа данных ИГХ реакций с маркерами лимфоцитов было установлено, что в ткани легких больных ФКТ, независимо от наличия либо отсутствия лекарственной устойчивости, максимальное количество $CD20+$ В-лимфоцитов определялись в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани и в лимфоидных фолликулах, располагаясь по периферии и непосредственно в герминативных центрах. Популяция $CD8+$ лимфоцитов была основной и превышала количество Т-хелперов в 2 раза. В условиях вторичного туберкулеза количество клеток лимфоидного ряда статистически значимо отличалось от данных контрольной группы что, по нашему мнению, свидетельствует о реактивной лабильности гуморального иммунитета. На фоне преобладания зрелых форм В-лимфоцитов парадоксальным являлось малое количество клеток, экспрессирующих маркер $CD138$. Плазматические клетки визуализировались небольшими группами в виде полукруга вокруг лимфоидных

фолликулов к группе пациентов с ЛУ ФКТ. В группе пациентов без лекарственной устойчивости плазмциты с интенсивным мембранно-цитоплазматическим окрашиванием определялись в лимфоидных агрегатах и непосредственно в стенках кавернозной полости с максимальной концентрацией $CD138+$ клеток на границе грануляционной ткани с зоной казеозного некроза. Необходимо отметить повышение количества плазматических клеток в стенке дренирующего бронха и прилегающей легочной ткани.

Таким образом, при оценивании динамики прогрессирования специфического воспаления при вторичном туберкулезе, значимым является характер распределения клеток лимфоидного ряда в области активных и неактивных гранулем. Установлено, что в сравнении с контролем у пациентов обеих групп снижается иммунорегуляторный индекс за счет значительного повышения $CD8+$ Т-киллеров. В активных гранулемах было установлено увеличение количества $CD4+$ Т-хелперов, которые локализовались вокруг казеоза в виде плотного кольца. $CD20+$ В-лимфоциты определялись в виде относительно стабильной популяции, перифокально по отношению к очагу воспаления. При дестабилизации гранулемы, пропорционально с увеличением зоны казеозного некроза, отмечалось увеличение пула $CD138+$ клеток с мембранной экспрессией и интенсивности цитоплазматической реакции стромальных клеток, что является критерием роста реактивности фибробластов.

Парадоксальное прогрессирование иммунодефицитного состояния при вторичных формах туберкулеза следует рассматривать с точки зрения первичного инфицирования антигенпрезентирующих клеток, в особенности макрофагов, программируемых *M. tuberculosis* для переключения иммунного ответа по альтернативному пути и активации макрофагов 2 типа, функционально направленных на ремоделирование окружающих тканей, интенсификацию процессов ангиогенеза и пневмофиброза (рис.5) [10; 13; 14].

При этом цитотоксический эффект Т-киллеров, который происходит путем впрыскивания перфоринов и других цитолитических веществ в цитоплазму макрофагов, приводит к апоптотической трансформации клеток без некробиотических изменений, а также к высвобождению микобактерий, персистирующих в макрофагах и прогрессированию специфического туберкулезного воспаления за счет нарастающей бактериальной инсеминации окружающих тканей легкого и вторичному неэффективному фагоцитозу. Определенная доля *M. Tuberculosis* уничтожается плазматическими лимфоцитами из достаточно стабильной популяции В-лимфоцитов, локали-

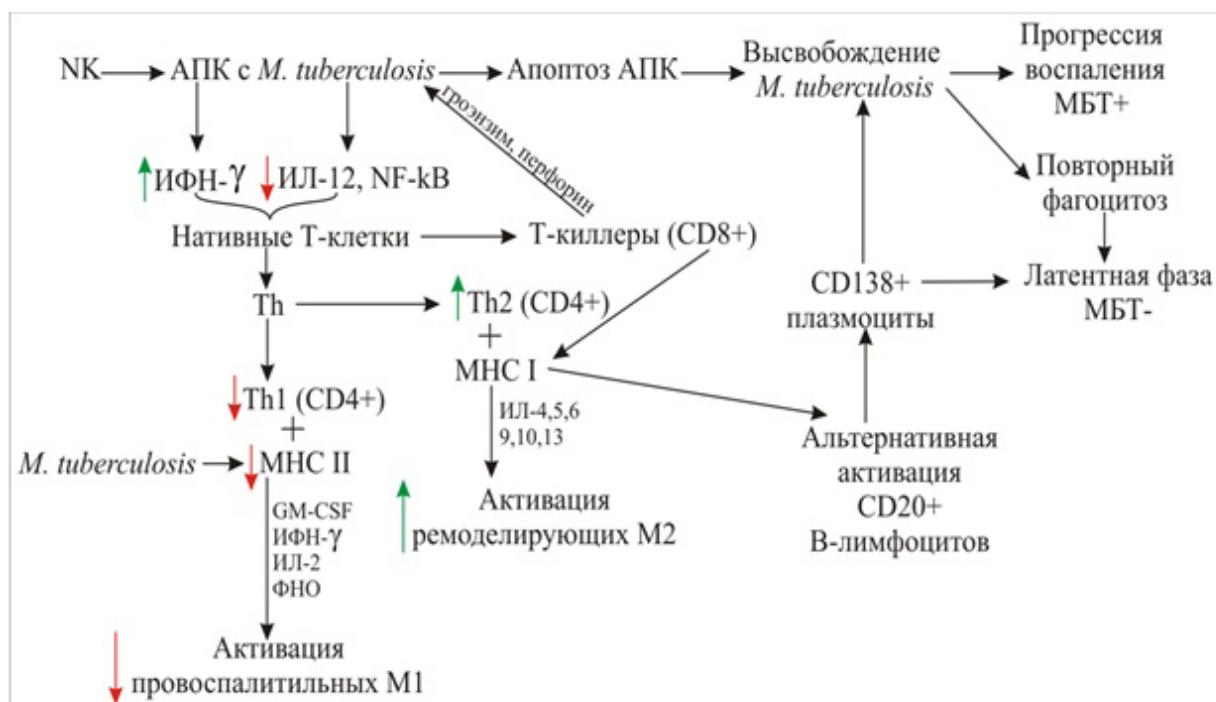


Рис.5. Схематическое изображение патогенетических механизмов активации специфического воспаления при ФКТ.

зованной в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани. При этом происходит ингибирование острого воспаления и перевод его в латентную фазу, что замыкает формирование патогенетического «порочного круга» [11; 12; 15].

Принимая во внимание значимую роль макрофагальной популяции в определении пути развития иммунного ответа, возможность иммунокоррекции должна быть направлена непосредственно на стимуляцию макрофагальной аутофагии, что приведет к ликвидации внутриклеточной персистенции *M. Tuberculosis*.

Соблюдение этических стандартов

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (протокол №9 от 21.03.2016 г.).

Благодарности

Авторы выражают благодарность доктору медицинских наук, профессору кафедры нормальной анатомии Медицинской академии имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» Е. Ю. Зяблицкой за оказанную помощь в проведении иммуногистохимических исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global Tuberculosis Report 2018. WHO/CDS/TB/2018.20. Geneva, World Health Organization, 2018:95-96.

2. Ваниев Э. В., Васильева И. А., Эргешов А. Э., Багдасарян Т. Р. Трудности ведения больного туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя и сопутствующей патологией. Туберкулез и болезни легких. 2016;94(7):56-60.

3. Голубинская Е. П., Филоненко Т. Г., Кубышкин А. В. и др. Особенности иммунофенотипа макрофагальной популяции при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких. Бюллетень сибирской медицины. 2019; 18 (1):190-201.

4. Гурова Я. В., Мордык А. В., Гурова И. С. Молекулярно-генетические методы исследования у больных с разным течением туберкулеза. Туберкулез и болезни легких. 2019;97(6):52-53.

5. Шиман О. В., Вабищевич И. М. Морфологическая характеристика туберкулёза. Смоленский медицинский альманах. 2017;(1):375-378.

6. Голубинская Е. П., Филоненко Т. Г., Ермола Ю. А. Ультраструктурные особенности компонентов аэрогематического барьера лёгких при фиброзно-кавернозном туберкулёзе легких. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019;14(1-2):180-186.

7. Piacenza L., Trujillo M., Rafael R. Reactive species and pathogen antioxidant works during phagocytosis. J. Experimental Med. 2019; 216(3): 501-516.

8. Бурмистрова И. А., Ваниев Э. В., Самойлова А. Г., Ловачева О. В., Васильева И. А. Нарастание спектра лекарственной устойчивости возбудителя на фоне неадекватной химиотерапии туберкулеза легких. Туберкулез и болезни легких. 2019;97(8):46-51. doi:10.21292/2075-1230-2019-97-8-46-51.

9. Huygen K. The immunodominant T-cell epitopes of the mycolyl-transferases of the antigen 85 complex of *M. tuberculosis*. *Front. Immunol.* 2014;5:1–11. doi:10.3389/fimmu.2014.00321

10. Jasenosky L. D., Scriba T. J., Hanekom W. A. et al. T cells and adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in humans. *Immunol. Rev.* 2015; 264:74–87. doi:10.1007/978-3-319-20478-9_5

11. Голубинская Е. П., Кальфа М. А., Ермола Ю. А. Проллиферативная активность метапластического эпителия слизистой оболочки бронхов при фиброзно-кавернозном туберкулезе. *Цитология.* 2019;(6):461-468.

12. Melo M. G. Imbalance of NET and alpha-1-antitrypsin in tuberculosis patients is related with hyperactive inflammation and severe lung tissue damage. *Frontiers in Immunology.* 2019;9:3147. doi:10.3389/2018.03147.

13. Шовкун Л. А., Кампос Е. Д., Константинова А. В., Франчук И. М. Влияние различных способов патогенетического лечения на процессы свободно-радикального окисления у больных инфильтративным туберкулезом легких. *Медицинский вестник юга России.* 2017;2(8):46-52.

14. Syal K., Chatterji D. Vitamin C: a natural inhibitor of cell wall functions and stress response in mycobacteria. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018;1112: 321-332.

15. Qualls J. E., Murray J. P. Immunometabolism within the tuberculosis granuloma: amino acids, hypoxia, and cellular respiration. *Semin Immunopathology.* 2016;38(2):139-152.

16. Шовкун Л. А., Кампос Е. Д., Франчук И. М., Константинова А. В., Володько Н. А. Эффективность патогенетического лечения у больных туберкулезом легких с экссудативным типом воспалительной тканевой реакции. *Медицинский вестник юга России.* 2016;1:87-91.

17. Фролова К. С., Борисов С. Е., Слуцкая О. М. Туберкулез у больных с воспалительными заболеваниями на фоне лечения ингибиторами ФНО-альфа. Туберкулез и социально значимые заболевания. 2018;2:31-41.

REFERENCES

1. Global Tuberculosis Report 2018. WHO/CDS/TB/2018.20. Geneva, World Health Organization, 2018:95-96.

2. Vaniev E. V., Vasilyeva I. A., Ergeshov A. E., Bagdasaryan T. R. Difficulties in managing a patient with pulmonary tuberculosis with multidrug-resistant pathogen and concomitant pathology. *Tub. and lung disease.* 2016;94(7):56-60. (in Russ)

3. Golubinskaya E.P., Filonenko T.G., Kubyskhin A.V. and other Features of the immunophenotypes of the macrophage population in fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2019;18(1):190-201. (In Russ).

4. Gurova Ya. V., Mordyk A. V., Gurova I.S. Molecular genetic research methods in patients with different courses of tuberculosis. *Tub. and lung disease.* 2019;97(6):52-53. (In Russ).

5. Shiman O. V., Vabishchevich I. M. Morphological characteristics of tuberculosis. *Smolensk Medical Almanac.* 2017;(1):375-378. (In Russ).

6. Golubinskaya E. P., Filonenko T. G., Ermola Yu. A. Ultrastructural features of the components of the air-blood barrier of the lungs in fibro-cavernous pulmonary tuberculosis. *Medical Bulletin of the North Caucasus.* 2019;14(1-2):180-186. (In Russ).

7. Piacenza L., Trujillo M., Rafael R. Reactive species and pathogen antioxidant works during phagocytosis. *J. Experimental Med.* 2019;216(3):501-516.

8. Burmistrova I. A., Vaniev E. V., Samoilova A. G., Lovacheva O. V., Vasilyeva I. A. Increase in the spectrum of drug resistance of the pathogen against the background of inadequate chemotherapy of pulmonary tuberculosis. *Tub. and lung disease.* 2019; 97(8):46-51. doi:10.21292/2075-1230-2019-97-8-46-51. (in Russ)

9. Huygen K. The immunodominant T-cell epitopes of the mycolyl-transferases of the antigen 85 complex of *M. tuberculosis*. *Front. Immunol.* 2014;5:1-11. doi:10.3389/fimmu.2014.00321

10. Jasenosky L.D., Scriba T.J., Hanekom W.A. et al. T cells and adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in humans. *Immunol. Rev.* 2015;264:74-87. doi:10.1007/978-3-319-20478-9_5

11. Golubinskaya E. P., Kalfa M. A., Ermola Yu. A. Proliferative activity of metaplastic epithelium of the bronchial mucosa in fibrocavernous tuberculosis. *Cytology.* 2019;(6):461-468. (In Russ).

12. Melo M. G. Imbalance of NET and alpha-1-antitrypsin in tuberculosis patients is related with hyperactive inflammation and severe lung tissue damage. *Frontiers in Immunology.* 2019;9:3147. doi:10.3389/2018.03147.

13. Shovkun L. A., Kampos E. D., Konstantinova A. V., Franchuk I. M. Influence of various methods of pathogenic treatment on the processes of free radical oxidation in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis // *Medical Bulletin of the South of Russia.* 2017;2(8):46-52. (In Russ).

14. Syal K., Chatterji D. Vitamin C: a natural inhibitor of cell wall functions and stress response in mycobacteria. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018;1112: 321-332.

15. Qualls J.E., Murray J.P. Immunometabolism within the tuberculosis granuloma: amino acids, hypoxia, and cellular respiration. *Semin Immunopathology.* 2016;38(2):139-152.

16. Shovkun L. A., Kampos E. D., Franchuk I. M., Konstantinova A. V., Volodko N. A. The effectiveness of pathogenetic treatment in patients with pulmonary tuberculosis with exudative type of inflammatory tissue reaction // *Medical Bulletin of the South of Russia.* 2016;1:87-91. (In Russ).

17. Frolova K. S., Borisov S. E., Slutskaia O. M. Tuberculosis in patients with inflammatory diseases during treatment with TNF-alpha inhibitors. *Tuberculosis and socially significant diseases.* 2018;2:31-41. (In Russ).

ОЦЕНКА ФЕНОТИПА ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Лазанович В. А., Маркелова Е. В., Шуматов В. Б., Костюшко А. В.

ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет, Министерства Здравоохранения Российской Федерации 690002, пр. Острякова 2, Владивосток, Россия

Для корреспонденции: Лазанович Владимир Анатольевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», e-mail: immuno2003@mail.ru

For correspondence: Vladimir A. Lazanovich, PhD., associate professor of normal and pathological physiology department, Pacific State Medical University, e-mail: immuno2003@mail.ru

Information about authors:

Lazanovich V. A., <http://orcid.org/0000-0003-0354-4890>

Markelova E. V., <http://orcid.org/0000-0001-5846-851X>

Shumatov V. B., <http://orcid.org/0000-0002-9645-3471>

Kostyushko A. V., <http://orcid.org/0000-0001-9401-1023>

РЕЗЮМЕ

Сепсис остается одной из наиболее масштабных проблем современной медицины во всем мире. Своевременное определение фенотипа иммунного ответа у пациента будет иметь решающее значение для принятия терапевтических решений. Проведен анализ сопряженности биомаркеров TNF- α , IL-6, IL10, TGF- β с уровнем Treg. Была выявлена прямая корреляция умеренной силы между уровнем содержания в крови IL-10 и Treg ($R = 0,54$, $p < 0,05$). Высокие показатели содержания Treg, IL-10 отражают иммуносупрессивный фенотип иммунного ответа на поздних стадиях и является прогностическим критерием неблагоприятного исхода при сепсисе.

Ключевые слова: цитокины, Treg, фенотип, сепсис

ASSESSMENT OF THE IMMUNE RESPONSE PHENOTYPE IN PATIENTS WITH SURGICAL SEPSIS DEPENDING ON THE COURSE AND OUTCOMES OF THE DISEASE

Lazanovich V. A., Markelova E. V., Shumatov V. B., Kostyushko A. V.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

SUMMARY

Sepsis remains one of the biggest problems of modern medicine throughout the world. Timely determination of the phenotype of the patient's immune response will be critical to making early therapeutic decisions. Analysis of the content of Treg and TNF- α , IL-6, IL10, TGF- β in patients with sepsis, depending on the severity of organ dysfunction in the dynamics of the disease was carried out. There was a direct correlation of moderate strength between the blood levels of IL-10 and Treg ($R = 0.54$, $p < 0.05$). High levels of Treg, IL-10 content reflect the immunosuppressive phenotype of the immune response in the late stages and is a prognostic criterion for an unfavorable outcome in sepsis.

Key words: cytokines, Treg, phenotype, sepsis

Сепсис продолжает быть масштабной проблемой современной медицины, оставаясь одной из основных причин смертности у пациентов хирургического профиля в разных странах мира [1]. По мере изучения патогенеза данной патологии происходит эволюция взглядов и представлений, которые находят отражения в концептуальных соглашениях и определениях сепсиса. Согласно соглашению Sepsis-3, сепсис определен как жизнеугрожающая органная дисфункция, вызванная неадекватной или дисрегулируемой реакцией хозяина на инфекцию [2]. Ранее были описаны SIRS (systemic inflammatory response syndrome) /CARS (compensatory Antiflammatory Response Syndrome), которые отражали ответ

хозяина на различные инфекционные патогены. Тогда как в настоящее время стало очевидно, что данный подход во многом упрощенный и не отражает гораздо более сложных индивидуальных механизмов иммунного ответа, его фенотипов и эндотипов. По сути, это и представлено в новом определении, с вводом термина «дисрегулируемый» ответ макроорганизма на инфекцию.

Кроме того, исследования последнего времени указывают на важные изменения и роль Т-лимфоцитов в регуляции воспаления при сепсисе [3]. Они отмечают, что если ранняя летальность при сепсисе связана с гипервоспалительной реакцией врожденного иммунитета, в результате «цитокинового шторма», продукции

IL-1 β , TNF α , IL-6, и острого развития системного воспалительного ответа, то в последующем, неблагоприятные исходы во многом обусловлены иммуносупрессией, связанной с повышением уровня противовоспалительных цитокинов IL-10, TGF- β , антагонистов рецептора к IL-1 (IL-1ra), TNF (sTNFR), реакциями адаптивной системы [4; 5]. Особую роль при сепсисе в ходе иммунного ответа, его регуляции и поддержания толерантности выполняют регуляторные Т-клетки (Treg) [6]. Недавние исследования показывают, что увеличение Treg-клеток при сепсисе коррелирует со снижением пролиферации и функциональной активности эффекторных Т-клеток [7]. Поэтому, данный показатель может быть ценным маркером лимфоцитарной анергии.

В этой связи комплексная оценка биомаркеров воспаления, клеток адаптивного иммунитета более чем актуальна, так как отражает меняющиеся фенотипы иммунного ответа в ходе септического процесса.

Цель исследования: провести анализ содержания, сопряженность биомаркеров TNF- α , IL-6, IL10, TGF- β с уровнем Treg, для оценки фенотипов иммунного ответа в зависимости от тяжести течения и клинических исходов заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Представлены результаты клинического, наблюдательного, проспективного исследования, проведенного на базе краевого Центра анестезиологии и реаниматологии, ГБУЗ Приморской краевой клинической больницы №1 г. Владивостока. В исследование были включены 59 пациентов, от 23 до 72 лет. Забор крови у пациентов проводился в первые 48 ч после поступления и установки диагноза «сепсис» в соответствии с критериями III международного консенсуса по сепсису и септическому шоку, SCCM-ESICM и Общероссийского экспертного совета РАСХИ и на 21-28-е сутки заболевания [8]. Из 59 пациентов, включенных в исследование, мужчины составили 64% (n = 38), женщины 36% (n = 21). Средний возраст составлял 49,2 \pm 12,5 года. Пациенты были распределены на 2 группы с учетом тяжести состояния и выраженности органной недостаточности. 1-я

группа (n = 37) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции < 6 баллов по шкале SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessments Score Sequential Organ Failure Assessment). 2-я группа (n = 22) – пациенты с диагнозом «сепсис» со степенью тяжести органной дисфункции > 6 баллов по шкале SOFA.

Данные о пациентах представлены в таблице 1. Группу сравнения составили практически здоровые, сравнимые по возрасту и полу добровольцы (n = 25).

Уровень TNF- α , IL-6, IL-10, TGF- β 1 определяли в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа ИФА с использованием реактивов «R&D diagnostic Inc.», США. Граница чувствительности метода 1 пг/мл. Определение уровня Treg (CD3+CD4+CD25 brightCD127negCD45+) осуществляли методом проточной цитометрии. Их оценку проводили в цельной венозной крови при использовании многоцветного анализа на проточном цитофлуориметре Beckman Coulter FC 500 с использованием реактивов фирм: Beckman Coulter (США). Исследование выполнено с информированного согласия всех пациентов, включенных в исследование, и одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г., протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицины 1999 г., и в соответствии со статьями 20, 22, 23 Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ (ред. от 21.07.2014).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием пакета прикладных программ «Statistica-10» параметрическими и непараметрическими методами для независимых выборок. Сопряженность уровня исследуемых показателей в первые 48 часов и на 21-е и 28-е сутки с исходом заболевания оценивалась с использованием критерия χ^2 . Статистически достоверными считали различия при p < 0,05.

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов

Показатели, единицы измерения	Средний возраст M \pm σ , лет	49,2 \pm 12,5
	Мужчины/женщины (абс / %)	38/21 (64/36 %)
	Органная недостаточность SOFA M \pm σ , баллы	7,9 \pm 4,1
	28-дневная летальность (абс / %)	14 (24 %)

Таблица 2

Средние значения исследуемых показателей у пациентов в зависимости от выраженности органной дисфункции в динамике (M ± σ)

Показатель, единицы измерения	Группа				
	1-я (SOFA < 6 баллов) n = 37	2-я (SOFA > 6 баллов) n = 22	1-я (SOFA < 6 баллов) n = 37	2-я (SOFA > 6 баллов) n = 22	Сравнения n = 25
Сроки исследования	48 ч от начала заболевания		На 21-28-е сутки		
заболевания	Однократно				
Лейкоциты, · 10 ⁹ /л	13,5 ± 4,4#	16,5 ± 5,5#	11,0 ± 3,8#*	5,5 ± 2,9*^	7,4 ± 1,4
Лимфоциты, · 10 ⁹ /л	2,5 ± 0,59	2,4 ± 0,72	1,4 ± 0,37*#	1,2 ± 0,33*#	2,4 ± 0,8
Лимфоциты, (%)	27,2 ± 4,2	29,3 ± 5,7	17,2 ± 6,4*#	12,5 ± 7,9*#	29,2 ± 9,2
TNF-α, пг/мл	21,7 ± 4,8#2	28,3 ± 11,8#2	33,2 ± 12,7#2	49,9 ± 17,5#2	2,09 ± 0,75
IL-6, пг/мл	39,8 ± 12,5#2	49,1 ± 17,3#2	52,1 ± 13,3#2	98,1 ± 41,2*#2	1,99 ± 0,53
IL-10, пг/мл	23,7 ± 10,6#2	32,6 ± 17,6#2	64 ± 34,9*	118,14 ± 47,4*	3,45 ± 0,71
TGF-β1, пг/мл	167,4 ± 43,6	157,2 ± 43,6	198,4 ± 43,6	111,4 ± 33,1	267,4 ± 57,6
Treg (CD3+CD4+CD25 bright CD127negCD45+), (%)	0,96 ± 0,17	0,89 ± 0,28	1,71 ± 0,46*^#	4,56 ± 1,2*^#2	0,87 ± 0,15

Примечание. Статистическая достоверность различий между группами в разные сроки заболевания: * – $p < 0,05$; между группами на этапе заболевания: ^ – $p < 0,05$; между группами пациентов и группой сравнения: # – $p < 0,05$; #2 $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средние значения уровней Treg и цитокинов в сыворотке пациентов обследуемых групп, в зависимости от выраженности органной дисфункции в динамике заболевания, полученные в ходе исследования, представлены в табл. 2.

У пациентов обеих групп отмечен высокий уровень лейкоцитов на начальной стадии течения септического процесса в отличие от группы сравнения ($p < 0,05$). Уровень лимфоцитов не претерпевал каких-либо существенных отличий между группами по степени выраженности органной дисфункции (шкала SOFA) и здоровых людей. На 21-28-е сутки у пациентов отмечена лимфопения, особенно в группе с более тяжелым течением сепсиса ($p < 0,05$), как относительно группы сравнения, так и пациентов обеих групп на начальном этапе исследования.

В группах с разной степенью органной дисфункции на начальной стадии заболевания (первые 48 часов) количество Treg, хотя и было повышено, но различия не достигали значимых величин относительно группы сравнения. На более поздних сроках септического процесса выявлено повышенное содержание Treg в обеих группах относительно группы сравнения, причем данный показатель был наиболее высок в группе с более выраженной органной дисфункцией (SOFA > 6 баллов) ($p < 0,01$). Между группами на данной стадии заболевания также

были выявлено достоверное различие содержания Treg. Так, в группе с более выраженной органной дисфункцией (SOFA > 6 баллов) средний уровень содержания Treg был выше и составил $4,56 \pm 1,2\%$ против $1,71 \pm 0,46\%$ в группе (SOFA < 6 баллов) ($p < 0,05$).

Проводя оценку исследуемых сывороточных цитокинов, обнаружены существенные различия их содержания у пациентов с сепсисом по сравнению с группой сравнения. При исследовании провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-6 между пациентами с сепсисом на этапах заболевания выявлены статистически значимые различия только на 21-28-е сутки для IL-6. В группе (SOFA > 6 баллов) он составил $98,1 \pm 41,2$ пг / мл, против $52,1 \pm 13,3$ пг / мл (SOFA < 6 баллов) ($p < 0,05$).

Оценивая уровень сывороточного содержания противовоспалительных цитокинов IL-10, TGF-β1, статистически значимые различия были отмечены лишь для IL-10, его уровень был значительно выше у пациентов с наиболее тяжелым течением сепсиса (SOFA > 6 баллов) на более позднем этапе наблюдения (21-28-е сутки).

Для оценки показателей уровня сывороточных цитокинов и Treg проведен анализ их взаимосвязи. Нами была выявлена прямая корреляция умеренной силы между уровнем содержания в крови IL-10 и Treg ($R = 0,54$, $p < 0,05$). Никакой взаимосвязи между сывороточным

уровнем IL-6, TNF- α , TGF- β 1 с Treg нами выявлено не было.

Далее был проведен анализ сопряженности уровня содержания Treg и исследуемых цитокинов на 21-28-е сутки, с исходом заболевания, используя критерий χ^2 . Проведенный анализ подтвердил, что показатель содержания Treg более 2% и IL-10 более 35 пг/мл на данном этапе сопряжен, соответственно ($p = 0,004$) и ($p = 0,003$) с особенностями течения заболевания. Высокие показатели содержания Treg, IL-10 отражают иммуносупрессивный фенотип иммунного ответа на поздних стадиях и является прогностическим критерием неблагоприятного исхода при сепсисе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленное повышение Treg в ходе исследования на поздних стадиях (21-28-е сутки) отражает супрессорную активность и вызывает, в конечном итоге, анергию Т-клеток и переход в стадию «иммунного паралича» [10]. Во многом супрессию иммунного ответа на поздних стадиях сепсиса связывают именно с Treg [11]. Данный тип клеток играет ключевую роль не только при онкологических, аутоиммунных заболеваниях и аллергопатологии, но и при инфекционных болезнях.

Treg-клетки способны прямо или косвенно подавлять клетки разных типов за счет различных факторов, в том числе продуцируя противовоспалительные цитокины, в том числе и IL-10 [12]. Высокий уровень данных показателей, по мнению исследователей, отражает иммуносупрессивный фенотип иммунного ответа, и он характерен для более поздней стадии заболевания при сепсисе [13].

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о значительном повышении содержания Treg и IL-10 в крови на более поздних стадиях течения сепсиса. Данные показатели отражают иммуносупрессивный фенотип иммунного ответа. Определение фенотипа иммунного ответа на разных этапах могло бы быть важным подспорьем для принятия терапевтических решений у конкретного пациента, в зависимости от стадии гипервоспаления или «иммунного паралича», терапия могла бы носить противовоспалительный или иммуномодулирующий характер. Своевременное определение фенотипа иммунного ответа у пациента будет иметь решающее значение для проведения иммунозаместительной, иммуномодулирующей или антицитокиновой биологической терапии против того или иного ключевого патогенетического механизма при

сепсисе и позволит целенаправленно применять эту терапию.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jain S. Sepsis: An Update on Current Practices in Diagnosis and Management. *Am. J. Med. Sci.* 2018;356(3):277-286. doi:10.1016/j.amjms.2018.06.012
2. Singer M., Deutschman S., Seymour C.W. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801–810. doi: 10.1001/jama.2016.0287
3. Hotchkiss R. S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(12): 862-74. doi: 10.1038/nri3552
4. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V., Marshall J., Gomez H. Immune Cell Phenotype and Function in Sepsis Shock. 2016;45(3):282-291. doi: 10.1097/SHK.0000000000000495
5. Лазанович В. А., Степанюк В. Н., Смирнов Г. А. Маркелова Е. В. Биомаркеры воспаления в прогнозе исхода абдоминального сепсиса. *Фундаментальные исследования.* 2012;4:311-315.
6. Lu Y., An L, Liu Q., Li C. Expression and Clinical Correlations of Co-Stimulatory Molecules on Peripheral T Lymphocyte Subsets of Early-Stage Severe Sepsis: A Prospective Observational Study. *Shock.* 2018;49(6):631-640. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001017
7. Liu Q., An L., Qi Z., Zhao Y., Li C. Increased Expression of Programmed Cell Death-1 in Regulatory T Cells of Patients with Severe Sepsis and Septic Shock: An Observational Clinical Study. *Scand J. Immunol.* 2017;86(5):408-417. doi: 10.1111/sji.12612.
8. Савельев В. С., Гельфанд Б. П. Сепсис: классификация, клинко-диагностическая концепция и лечение: Практическое руководство. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2013.
9. Шуматов В. Б., Лазанович В. А., Павлов В. А., Ермакова Н. Д., Просекова Е. В. Внутривенные иммуноглобулины в качестве адъювантной терапии пациентов с сепсисом. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2017;(2):42-45. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.42-45
10. Черных Е. Р., Леплина О. Ю., Тихонова М. А., Курганова Е. В., Стрельцова Е. И., Останин А. А., Козлов В. А. Феномен Т-клеточной анергии при хирургическом сепсисе. *Медицинская иммунология.* 2003;(5):529-538.
11. Venet F., Chung C. S., Kherouf H. et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)/CD25 (+)/CD127 (-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med.* 2009;35(4):678–686. doi:10.1007/s00134-008-1337-8
12. Romano M., Fanelli G., Albany C. J., Giganti G. Past, present and future of regulatory T cell therapy

in transplantation and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2019;10(43):1-14. doi: 10.3389/fimmu.2019.00043

13. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V. Immune cell phenotype and function in sepsis Shock. 2016;45(3):282–291. doi:10.1097/SHK.0000000000000495

REFERENCES

1. Jain S. Sepsis: An Update on Current Practices in Diagnosis and Management. *Am. J. Med. Sci.* 2018; 356(3): 277-286. doi:10.1016/j.amjms.2018.06.012

2. Singer M., Deutschman S., Seymour C. W. et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801–810. doi: 10.1001/jama.2016.0287

3. Hotchkiss R. S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(12):862-74. DOI: 10.1038/nri3552

4. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V., Marshall J., Gomez H. Immune Cell Phenotype and Function in Sepsis Shock. 2016;45(3):282-291. doi: 10.1097/SHK.0000000000000495

5. Lazanovich V. A., Stepanjuk V. N., Smirnov G. A. Markelova E. V. Inflammation biomarkers in predicting the outcome of abdominal sepsis. *Fundamental'nye issledovanija.* 2012;4:311-315. (In Russ).

6. Lu Y., An L., Liu Q., Li C. Expression and Clinical Correlations of Co-Stimulatory Molecules on Peripheral T Lymphocyte Subsets of Early-Stage Severe Sepsis: A Prospective Observational Study. *Shock.* 2018;49(6):631-640. doi: 10.1097/SHK.0000000000001017

7. Liu Q., An L., Qi Z., Zhao Y., Li C. Increased Expression of Programmed Cell Death-1 in Regulatory T Cells of Patients with Severe Sepsis and Septic Shock: An Observational Clinical Study. *Scand J. Immunol.* 2017;86(5):408-417. doi:10.1111/sji.12612.

8. Savel'ev V. S., Gel'fand B. R. Sepsis: classification, clinical diagnostic concept and treatment: *Prakticheskoe rukovodstvo.* M.: ООО «Izdatel'stvo «Medicinskoe informacionnoe agentstvo»; 2013. (In Russ).

9. Shumatov V. B., Lazanovich V. A., Pavlov V. A., Ermakova N. D., Prosecova E. V. Intravenous immunoglobulin as adjuvant therapy in patients with sepsis. *Pacific Medical Journal,* 2017;(2):28-31. (In Russ). doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.42-45

10. Chernyh E. R., Leplina O. Ju., Tihonova M. A., Kurganova E. V., Strel'cova E. I., Ostanin A. A., Kozlov V. A. Phenomenon of T cellular anergy in surgical sepsis. *Medicinskaja immunologija.* 2003;(5):529-538. (In Russ).

11. Venet F., Chung C. S., Kherouf H. et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25 (+)CD127 (-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med.* 2009;35(4):678–686. doi:10.1007/s00134-008-1337-8

12. Romano M., Fanelli G., Albany C. J., Giganti G. Past, present and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front. Immunol.* 2019;10(43):1-14. doi: 10.3389/fimmu.2019.00043

13. Rimmelé T., Payen D., Cantaluppi V. Immune cell phenotype and function in sepsis Shock. 2016;45(3):282–291. doi: 10.1097/SHK.0000000000000495

УДК 616.62-006.6-073.

DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-31-38

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ OCT4, NANOG И ЭНДОГЛИНА В ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМАХ

Османов Ю. И., Коган Е. А., Демьяшкин Г. А., Таланов А. С., Щекин В. И.

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

Для корреспонденции: Османов Юсиф Исламович: кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом; доцент кафедры патологической анатомии им. академика А. И. Струкова Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), e-mail: osmanovyouseef@yandex.ru

For correspondence: Youseef Osmanov, PhD, MD; pathologist; ass. Professor of the Department of Pathology of the I.M. Sechenov First MSMU (Sechenov University), e-mail: osmanovyouseef@yandex.ru

Information about authors:

Osmanov Y. I., <http://orcid.org/0000-0002-7269-4190>

Kogan E. A., <http://orcid.org/0000-0002-1107-3753>

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Talanov A. S., <https://orcid.org/0000-0003-3909-5396>

Shchekin V. I., <https://orcid.org/0000-0003-3763-7454>

РЕЗЮМЕ

В настоящее время изучаются возможности ряда потенциальных стволовых маркеров в качестве раковых стволовых клеток в почечно-клеточных карциномах (ПКК) и их прогностическая значимость. В связи с этим изучение характера экспрессии факторов транскрипции – NANOG и OCT4, а также эндоглина в ПКК представляет большой интерес. Цель исследования: провести сравнительную оценку экспрессии стволовых маркеров NANOG, OCT4 и CD105 в гистологических вариантах почечно-клеточной карциномы и определение их прогностической значимости. Материал и методы. Исследование выполнено на операционном материале от 225 пациентов с почечно-клеточной карциномой. Использовали антитела: NANOG, OCT4 и CD105. Для выявления различий между сравниваемыми группами использовали непараметрический критерий согласия Пирсона (χ^2). Результаты. Экспрессия NANOG выявлена в 150 (66,7%) наблюдениях. Ядерная экспрессия OCT4 обнаружена в 72 (32 %) образцах только в единичных опухолевых клетках. Позитивная реакция на CD105 определена в 60 случаях (26,7%). Заключение. В зависимости от гистологического варианта почечно-клеточной карциномы выявлены достоверные ассоциации между экспрессией CD105 и клиническими параметрами.

Ключевые слова: почечно-клеточная карцинома, раковая стволовая клетка, иммуногистохимия.

FEATURES OF EXPRESSION OF OCT4, NANOG AND ENDOGLIN IN RENAL CELL CARCINOMAS

Osmanov Y. I., Kogan E. A., Demyashkin G. A., Talanov A. S., Shchekin V. I.

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

SUMMARY

Possibilities of the potential stem markers as cancer stem cells in renal cell carcinomas (RCC) and their prognostic significance are currently being studied. In this regard, the study of the expression pattern of transcription factors – NANOG and OCT4, as well as endoglin in the RCC is of great interest.

The aim of the study was to conduct a comparative assessment of the expression of stem markers NANOG, OCT4, and CD105 in histological variants of renal cell carcinoma and determine their prognostic significance.

Material and methods. The study was performed on surgical material from 225 patients with renal cell carcinoma. Antibodies used: NANOG, OCT4 and CD105. The nonparametric Pearson agreement test (χ^2) was used to identify the differences between the compared groups.

Results. NANOG expression was detected in 150 (66.7%) cases. Nuclear expression of OCT4 was detected in 72 (32%) samples in only single tumor cells. A positive response to CD105 was determined in 60 cases (26.7%).

Conclusion. Reliable associations between the expression of CD105 and clinical parameters were revealed depending on the histological variant of renal cell carcinoma.

Key words: renal cell carcinoma, cancer stem cell, immunohistochemistry.

В структуре онкологической заболеваемости почечно-клеточная карцинома (ПКК) составляет 2–3% всех опухолей. По данным литературы, встречаемость ПКК ежегодно возрастает на 2,5%, а индивидуальный риск в зависимости от пола и факторов риска варьирует в пределах

0,8–1,4%. На сегодняшний день в ведущих медицинских исследовательских центрах мира ведутся активные поиски альтернативных подходов лекарственной терапии ПКК. В настоящий момент одним из перспективных направлений в лечении ПКК является разработка таргетных

препаратов для элиминации раковых стволовых клеток (РСК). Результаты многочисленных работ показывают, что в большинстве своем РСК в ПКК экспрессируют те же гены, что и соматические стволовые клетки почечной паренхимы [1–4]. В связи с этим, изучение характера экспрессии факторов транскрипции – NANOG и OCT4 в ПКК представляет большой интерес. Отдельный раздел исследований посвящен поиску мишеней, которые можно использовать для инактивации молекул ангиогенеза. По этой причине все более пристальное внимание уделяется изучению характера экспрессии CD105 в ПКК [5; 6; 7].

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка экспрессии стволовых маркеров – NANOG, OCT4 и CD105 в гистологических вариантах ПКК и определение их прогностической значимости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клинические данные. Объектом исследования послужил архивный биопсийный материал от 226 больных (129 мужчин и 97 женщин), средний возраст – 59 лет, проходивших хирургическое лечение в Урологической клинике Сеченовского Университета и в Урологическом центре Научного клинического центра ОАО РЖД по поводу опухоли почки в период с 2011 г. по 2017 г.

Гистологическое исследование.

Степень злокачественности ПКК (G) оценивали по четырехуровневой системе градации согласно классификации ВОЗ/ISUP 2016 года. Для оценки степени ядерной градации хромофобного рака использовали трехуровневую систему по G. Papen. Стадию опухоли (pT1 – T4) определяли согласно протоколу 8-го издания TNM-классификации опухолей мочевыделительной системы [8; 9; 10].

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ).

ИГХ-исследование проводилось на парафиновых срезах толщиной 4–5 мкм. Для мониторинга парафиновых срезов использовали готовые предметные стекла с адгезивным покрытием (Polylin Slides, Menzel GmbH & Co KG; Германия). Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для «демаскировки» антигенов срезы инкубировали в течение 5 мин с 3% H₂O₂, подвергали высокотемпературной обработке в цитратном буфере с pH 6,0 или 9,0 (для каждого антитела в соответствии с рекомендуемым протоколом) в микроволновой печи (2 раза по 5 мин при мощности 690 Вт с перерывом 2 мин). Инкубацию с первичными антителами проводили при комнатной температуре в течение 40–60

мин. В качестве вторичных антител использовали систему EnVision (“DAKO Cytomation”, Дания). Срезы инкубировали в течение 20–40 мин (в соответствии с рекомендуемым протоколом). Для визуализации ИГХ-реакции использовали DAB+систему (“DAKO Cytomation”, Дания). Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в канадский бальзам. В каждой серии препаратов был соответствующий позитивный и негативный контроль. Для каждого маркера учитывали топику положительной экспрессии в опухолевой клетке – ядерная, цитоплазматическая или мембранная. В качестве первичных антител применяли моноклональные антитела к CD105 («Invitrogen», концентрация 1:100), NANOG («Abcam», концентрация 1:400) и OCT4 («Abcam», концентрация 1:100). Выраженность экспрессии маркеров оценивали полуколичественным методом: 0 баллов – отсутствие экспрессии; 1 балл – положительная экспрессия до 25% клеток опухоли; 2 балла – положительная экспрессия от 25 до 50% клеток опухоли; 3 балла – положительная экспрессия от 50 до 75% клеток опухоли; 4 балла – положительная экспрессия более 75% клеток опухоли. При наличии от 0 до 2 баллов ИГХ-реакцию считали отрицательной или слабой, а выше 2-х баллов сильной или выраженной по Z. Zeng и соавт. с изменениями [11; 12]. Плотность микроваскулярной сети (ПМВС) опухолевой ткани оценивали в 10 «горячих точках» (в местах максимального числа положительно окрашенных сосудов) препарата при реакции на CD105 при увеличении $\times 200$. При средних значениях менее 50 окрашенных сосудов ПМВС оценивали как слабую, от 50 до 110 окрашенных сосудов – как умеренную, а более 110 – как сильную по F. Veselaj и соавт [13].

Статистическая обработка данных выполнена на персональном компьютере с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 7.0, “StatSoft Inc.” (США).

Для выявления различий между сравниваемыми группами использовали непараметрический критерий согласия Пирсона (χ^2). Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все 235 новообразования были распределены в соответствии с гистологическим вариантом. Из них по 60 (25,5%) случаев были верифицированы как светлоклеточная почечно-клеточная карцинома (СПКК), папиллярная ПКК (ППКК) и хромофобная ПКК (ХПКК), соответственно. Все остальные гистологические формы (n=55; 23,4%) были объединены в группе «другие варианты ПКК». Из них 10 (4,3%) образцов были

верифицированы как MiTF-ассоциированная ПМК; по 9 (3,8%) наблюдений – карцинома из собирательных трубочек (КСТ) и ПМК, ассоциированная приобретенной кистозной болезнью почки (ПМКАПМКБП); 8 (3,4%) случаев – неклассифицируемая ПМК; 5 (2,1%) образцов – светлоклеточная папиллярная ПМК (СПМК); 4 (1,7%) случая – тубулокистозная ПМК (ТКПМК); 3

(1,3%) образца – медуллярная карцинома (МК); по 2 (0,9%) опухоли – сукцинатдегидрогеназа дефицитная ПМК (СДГД ПМК), фумаратгидратаза дефицитная ПМК (ФГД ПМК) и муцинозная тубулярная и веретеночклеточная ПМК (МТВПМК); 1 (0,4%) случай как фолликулярная карцинома почки (ФКП). Основные клинико-морфологические параметры опухолей обобщены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение случаев в зависимости от их гистологического строения и клинических параметров

		n (%)
		235 (100%)
Пол	Мужчины	134 (57,0%)
	Женщины	101 (43,0%)
Возраст	≤59	86 (36,6%)
	>59	149 (64,4%)
Гистологический вариант	Светлоклеточная ПМК	60 (25,5 %)
	Папиллярная ПМК	60 (25,5 %)
	Хромофобная ПМК	60 (25,5 %)
	MiTF-ассоциированная ПМК	10 (4,3 %)
	ПМК ассоциированная приобретенной кистозной болезнью	9 (3,8 %)
	Карцинома из собирательных трубочек	9 (3,8 %)
	Неклассифицируемая ПМК	8 (3,4 %)
	Светлоклеточная папиллярная ПМК	5 (2,1%)
	Тубулокистозная ПМК	4 (1,7 %)
	Медуллярная карцинома	3 (1,3%)
	Сукцинатдегидрогеназа-дефицитная ПМК	2(0,9%)
	Фумарат-гидратаза-дефицитная ПМК	2(0,9%)
	Муцинозная тубулярная и веретеночклеточная ПМК	2(0,9%)
Фолликулярная карцинома	1(0,4%)	
Размер опухоли	≤ 4 см	78 (33,2%)
	> 4 см	157 (66,8%)
Стадия	pT1 – pT2	167 (71,1%)
	pT3 – pT4	68 (28,9%)
Ядерная градация	G1 – G2	112 (47,7%)
	G3 – G4	123 (52,3%)

Примечание: обозначение ПМК – почечно-клеточная карцинома

1. NANOG и OCT4

Сильная или выраженная ядерная экспрессия NANOG выявлена в 157 (66,8%) наблюдениях. Во всех гистологических вариантах экспрессия маркера NANOG обнаружена в большинстве случаев (рис. 1; табл. 2).

Вместе с тем, при анализе возможной взаимосвязи между экспрессией NANOG и клинико-морфологическими параметрами ПМК были по-

лучены статистически не значимые результаты ($p>0,05$) (табл. 3).

Ядерная экспрессия OCT4 обнаружена в 72 (30,6%) образцах только в единичных опухолевых клетках (рис. 2).

2. CD105

Сильная или выраженная цитоплазматическая экспрессия CD105 в опухолевых клетках определена в 77 (32,8%) случаях. Сильную или выраженную экспрессию маркера выявляли при

Таблица 2

Связь между экспрессией NANOG и гистологическими вариантами ПКК

Гистологические варианты	NANOG		χ^2 р
	отрицательная или слабая экспрессия	сильная или выраженная экспрессия	
	n (%)		
СПКК	19 (31,7%)	41 (68,3%)	0,157 р>0,05
ППКК	20 (33,3%)	40 (66,7%)	
ХПКК	21 (35,0%)	39 (65,0%)	
другие ПКК	18 (32,7%)	37 (67,3%)	

Примечание: обозначение СПКК – светлоклеточная ПКК; ППКК – папиллярная ПКК; ХПКК – хромофобная ПКК.

Таблица 3

Связь между экспрессией NANOG и клиничко-морфологическими параметрами ПКК

	n (%)	NANOG		χ^2 р
		отрицательная или слабая экспрессия	сильная или выраженная экспрессия	
Пол				
муж	134 57,0%	39 16,6 %	95 40,4 %	2,349 р=0,126
жен	101 43,0%	39 16,6 %	62 26,4 %	
Возраст				
≤59	86 36,6%	26 11,1 %	60 25,5 %	0,536 р=0,465
>59	149 64,4%	52 22,1 %	97 41,3 %	
Размер опухоли				
≤ 4см	78 33,2%	27 11,5 %	51 21,7 %	0,107 р=0,744
> 4см	157 66,8%	51 21,7 %	106 45,1 %	
Стадия				
рТ1-рТ2	167 71,1%	54 23,0 %	113 48,1 %	0,191 р=0,663
рТ3-рТ4	68 28,9%	24 10,2 %	44 18,7 %	
Ядерная градация				
G1-G2	112 47,7%	36 15,3 %	76 32,3 %	0,106 р=0,745
G3-G4	123 52,3%	42 17,9 %	81 34,5 %	

СПКК (38,3%), ХПКК (31,6%), ППКК (28,3%) и других вариантах ПКК (32,7%). При анализе возможной взаимосвязи между экспрессией CD105 и клиничко-морфологическими параметрами вариантов ПКК, только в СПКК были обнаружены статистически значимые результаты. Так, было определено, что в СПКК по мере увеличения стадии и ядерной градации опухоли процент положительно прореагировавших опухолевых клеток на CD105 возрастает (рис. 3 и 4).

В тоже время противоположная картина наблюдалась при сравнительной оценке эндотелиальной экспрессии маркера в ткани опухоли.

При оценке взаимосвязи CD105-положительных сосудов опухоли с размером, стадией и ядерной градацией СПКК определены значимые достоверные связи ($p < 0,05$). Установлено, что в СПКК по мере увеличения размера, стадии и ядерной градации среднее значение внутриопухолевой ПМВС уменьшается (рис. 5).

В тоже время противоположная картина наблюдалась при сравнительной оценке эндотелиальной экспрессии маркера в ткани опухоли. При оценке взаимосвязи CD105-положительных сосудов опухоли с размером, стадией и ядерной градацией СПКК определены значимые досто-

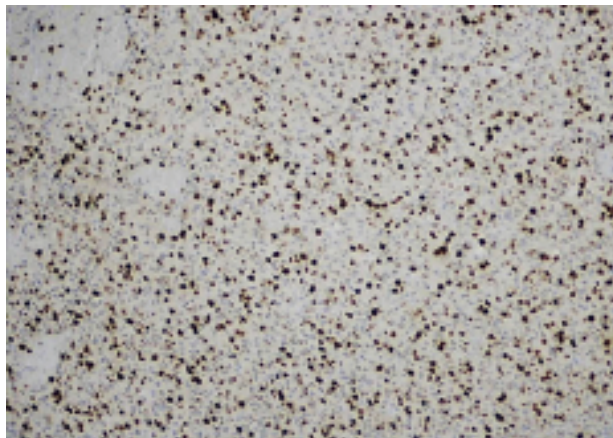


Рис. 1. Сильная ядерная экспрессия NANOG в опухолевых клетках СПКК, увелич.×100.

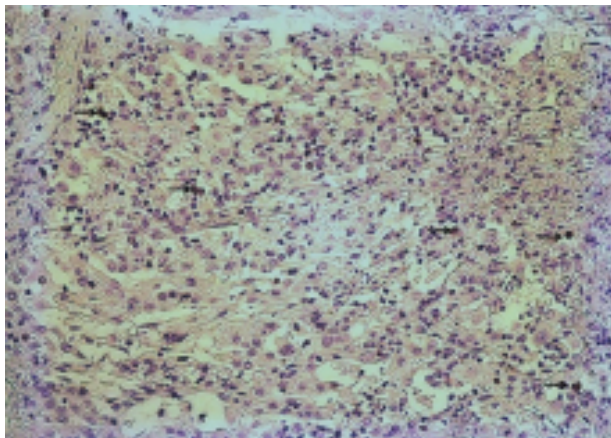


Рис. 2. Ядерная экспрессия OCT4 в единичных опухолевых клетках СПКК (указана маркерами), увелич.×200.

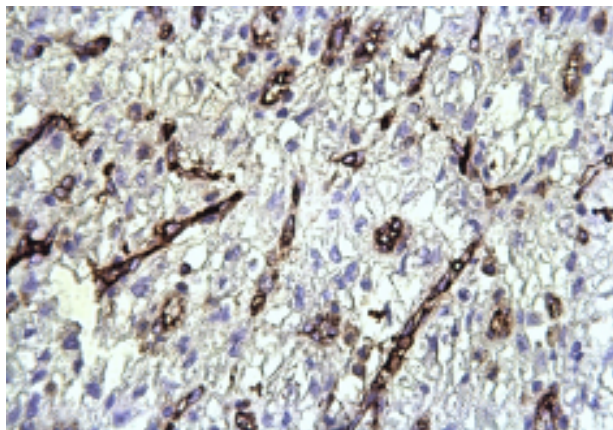


Рис. 3. Сильная эндотелиальная и слабая опухолевая экспрессия CD105 в СПКК при ядерной градации G2 в стадии pT1, увелич.×200.

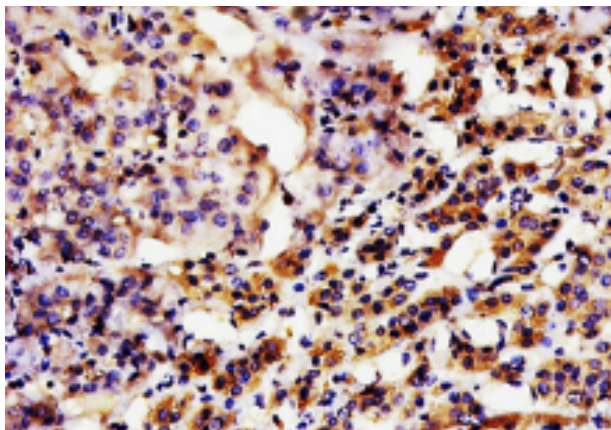


Рис. 4. Сильная опухолевая и слабая эндотелиальная экспрессия CD105 в СПКК при ядерной градации G3 в стадии pT3, увелич.×200.

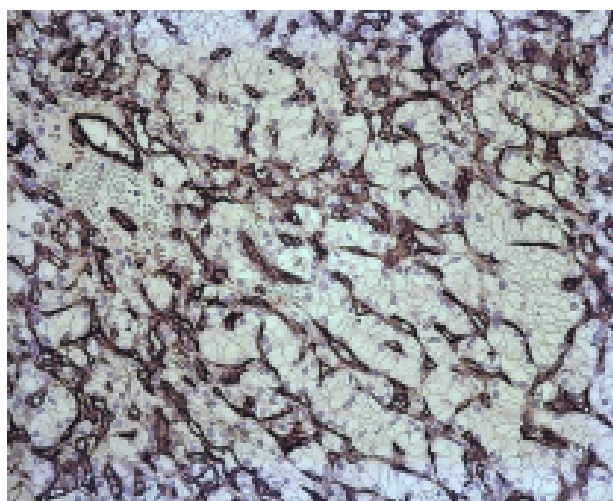
верные связи ($p < 0,05$). Установлено, что в СПКК по мере увеличения размера, стадии и ядерной

градации среднее значение внутриопухолевой ПМВС уменьшается (рис. 5).

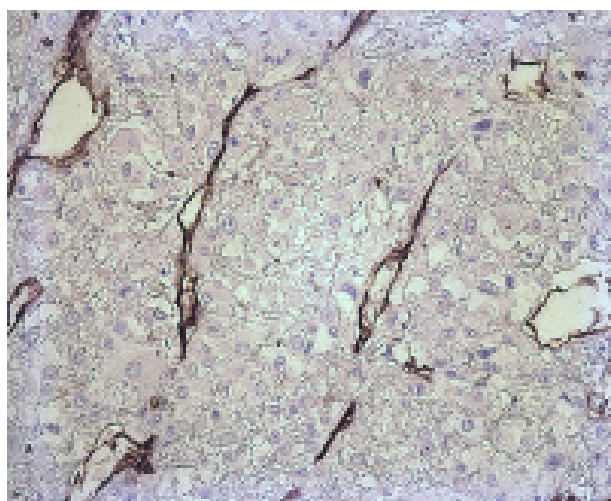
pT1/G1

pT2-4/G2-G4

СПКК

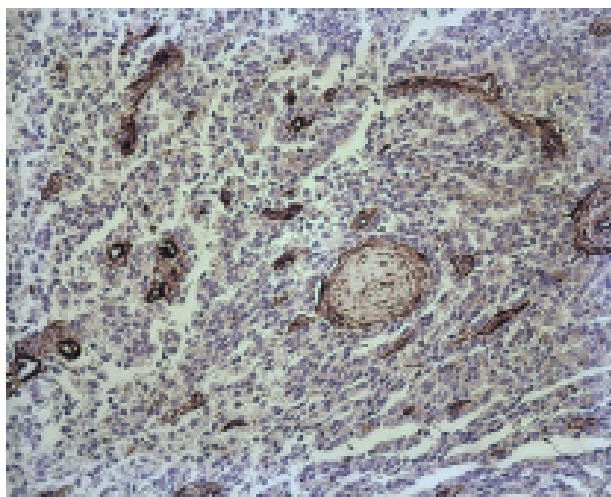


А

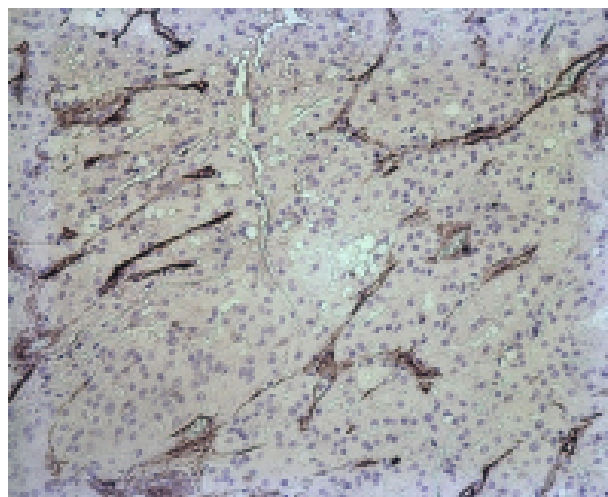


Б

ППКК

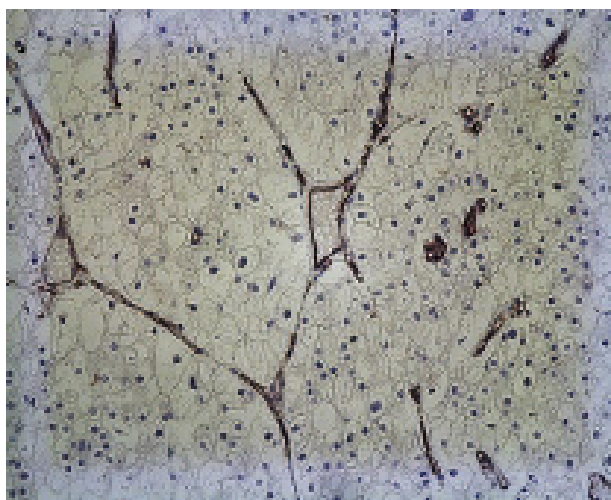


В

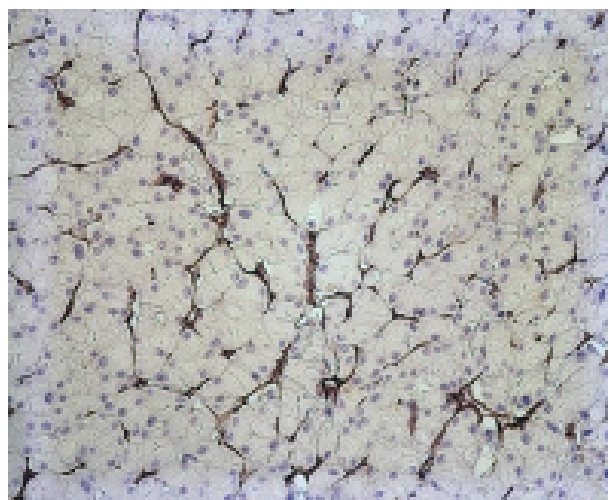


Г

ХПКК



Д



Е

Рис. 5. Выраженность эндотелиальной экспрессии CD105 в СПКК, ППКК и ХПКК в зависимости от степени ядерной градации и размера опухоли. А – сильная экспрессия CD105 в сосудах СПКК при G1 в стадиях pT3-4, увелич.×100.; Б – слабая экспрессия CD105 в сосудах СПКК при G4 (рабдоидный рак) в стадиях pT3-4, увелич.×200; В – умеренная экспрессия CD105 в сосудах ППКК I типа в стадиях pT1, увелич.×200; Г – умеренная экспрессия CD105 в сосудах ППКК II типа в стадиях pT2-4, увелич.×200; Д – слабая экспрессия CD105 в сосудах ХПКК при G1 в стадиях pT1, увелич.×200; Е – умеренная экспрессия CD105 в сосудах ХПКК при G2 в стадиях pT2, увелич.×200.

Наряду с этим, в остальных вариантах ПКК сравнительный анализ возможных ассоциаций между эндотелиальной экспрессией CD105 и клиничко-морфологическими параметрами не выявил достоверную связь (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

NANOG является регулятором транскрипции, участвует в пролиферации и самообновлении эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), предотвращая их дифференцировку в сторону внезародышевой эндодермы и трофодермы. NANOG самостоятельно или в комбинации с

другими маркерами выявляется в РСК герминогенных опухолей яичника и яичка [8]. OCT4 – схожий с NANOG транскрипционный фактор, отвечающий за контроль пролиферации ЭСК. Позитивная экспрессия OCT4 обнаруживается в РСК герминогенных опухолей яичника и яичка, интракраниальных дисгермином, плоскоклеточного рака пищевода, а также мелкоклеточной карциномы лёгкого. В надежде на исключительный плюрипотентный потенциал РСК ряд исследователей отмечают о возможной роли молекул ЭСК- NANOG и OCT4 в молекулярном патогенезе ПКК [1]. Вместе с тем, в нашем исследова-

Таблица 4

Связь между опухолевой, эндотелиальной экспрессиями CD105 и клинко-морфологическими параметрами в СПКК

	n (%)	Экспрессия CD105 в опухолевых клетках		P (χ^2)	Экспрессия CD105 в сосудах опухоли		p (χ^2)
		негативная/слабая	сильная/выраженная		слабая/умеренная	сильная	
СПКК	60 (25,5%)	37 (15,7%)	23 (9,8%)		24 (10,2%)	36 (15,3%)	
Пол							
муж	36 (15,3%)	22 (9,4%)	14 (5,9%)	0,914	15 (6,4%)	21 (8,9%)	0,747
жен	24 (10,2%)	15 (6,4%)	9 (3,8%)		9 (3,8%)	15 (6,4%)	
Возраст							
≤59	16 (6,8%)	10 (4,3%)	6 (2,6%)	0,937	6 (2,6%)	10 (4,3%)	0,812
>59	44 (18,7%)	27 (11,5%)	17 (7,2%)		18 (7,6%)	26 (11,1%)	
Размер опухоли							
≤4см	14 (6,0%)	9 (3,8%)	5 (2,1%)	0,098	5 (2,1%)	9 (3,8%)	0,709
>4см	46 (19,6%)	28 (11,9%)	18 (7,6%)		19 (8,1%)	27 (11,5%)	
Стадия							
pT1-pT2	31 (13,2%)	25 (10,6%)	6 (2,6%)	p<0,05	7 (3,0%)	24 (10,2%)	p<0,05
pT3-pT4	29 (12,3%)	12 (5,1%)	17 (7,2%)		17 (7,2%)	12 (5,1%)	
Ядерная градация							
G1-G2	30 (12,8%)	23 (9,8%)	7 (3,0%)	p<0,05	8 (3,4%)	22 (9,4%)	p<0,05
G3-G4	30 (12,8%)	14 (6,0%)	16 (6,8%)		16 (6,8%)	14 (6,0%)	

нии при анализе возможной взаимосвязи между экспрессией NANOG и OCT4 с клинко-морфологическими параметрами ПКК не обнаружили достоверно значимых результатов. Полученные результаты согласуются с данными литературы [7; 9]. При этом показаны статистически не значимые результаты взаимосвязи между экспрессией NANOG, OCT4 и гистологическими вариантами ПКК, а также их клинко-морфологическими параметрами [2; 4]. Таким образом, вопрос о прогностическом значении NANOG и OCT4 маркеров в ПКК остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Эндоглин (CD105), являющийся регуляторным компонентом TGF- β рецепторного комплекса, в норме контролирует клеточный ответ на TGF- β 1. Мутация этого гена вызывает наследственную геморрагическую телеангиоэктазию I

типа. Интенсивность экспрессии этого маркера увеличивается при ряде лимфопролиферативных заболеваний, карциноме молочной железы, яичника, эндометрия, желудка и др. [6].

Разные исследователи в карциномах различных локализаций установили важное значение CD105 как маркера РСК, так и белка, участвующего в опухолевом ангиогенезе. Наше исследование показало, что частота и выраженность опухолевой и эндотелиальной экспрессии CD105 в гистологических вариантах ПКК отличается. Кроме того, в СПКК определены значимые корреляции между экспрессией маркера и размером, стадией, а также ядерной градацией, как в опухолевых, так и эндотелиальных клетках. Выявленная тенденция к уменьшению ПМВС по мере увеличения размера, стадии и ядерной градации является также отличитель-

ной особенностью СПКК среди других вариантов ПКК. Предполагается, что в условиях дефектного продукта VHL в клетке накапливается избыточное количество HIF-1 α , который активирует транскрипцию индуцируемых гипоксией белков (CD105, PDGF, VEGF и TGF- α), участвующих, в свою очередь, в активной регуляции клеточной пролиферации и неоангиогенеза. При прогрессировании заболевания чрезмерное повышение экспрессии выше перечисленных белков приводит к усилению фиброза и развитию относительно крупнокалиберных сосудов в опухолевой ткани, вследствие чего происходит уменьшение ПМВС [10]. Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало, что как опухолевая, так и эндотелиальная экспрессия CD105 отражает особенности молекулярно-биологической пути СПКК, лежащей на основе этой гистогенетической формы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При оценке возможных ассоциаций между экспрессиями маркеров эмбриональных СК - NANOG, OCT4 с клинико-морфологическими параметрами ПКК статистически значимые результаты не обнаружены.

2. Среди гистологических вариантов ПКК только в СПКК сравнительный анализ выявил достоверную связь между опухолевой и эндотелиальной экспрессиями CD105 и клинико-морфологическими параметрами. Определено, что в СПКК по мере увеличения стадии и ядерной градации опухоли процент CD105-положительных опухолевых клеток возрастает. Противоположная картина наблюдается при сравнительной оценке эндотелиальной экспрессии маркера в ткани опухоли. При оценке взаимосвязи эндотелиальной экспрессии CD105 со стадией и ядерной градацией СПКК определены статически значимые связи ($p < 0,05$). Установлено, что в СПКК по мере увеличения опухолевой стадии и ядерной градации среднее значение внутриопухолевой ПМВС уменьшается.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА /REFERENCE

- Shuanzeng W., Tahseen A. S. The Pathology and Molecular Genetics of Sarcomatoid Renal Cell Carcinoma: A Mini-Review. *J Kidney Cancer VHL*. 2017;4(2):19–23. doi: 10.15586/jkcvhl.2017.70.
- Zhang H., Majeed N. K., Sharifi R., Guzman G. A Case of Sarcomatoid Renal Cell Carcinoma With Osseous Metaplasia and Papillary Renal Cell Carcinoma Metastasis. *J Clinical Pathology*. 2019;12. doi:10.1177/2632010X19848005.
- Lebacle C., Pooli A., Bessedé T., Irani J., Pantuck A. J., Drakaki A. Epidemiology, biology and treatment of sarcomatoid RCC: current state of the art. *Format: World J Urol*. 2019;37(1):115-123. doi:10.1007/s00345-018-2355-y.
- Pichler R., Compérat E., Klatté T., Pichler M., Loidl W., Lusuardi L., Schmidinger M. Renal Cell Carcinoma with Sarcomatoid Features: Finally New Therapeutic Hope? *J Cancers*. 2019; 11:422. doi:10.3390/cancers11030422.
- Mohammed N., Parminder S. Epidemiology and outcome of sarcomatoid renal cell cancer compared to clear cell renal cancer: A Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database review. *Journal of Clinical Oncology*. 2017;32:504. doi: 10.1200/jco.2014.32.4_suppl.504.
- Zhang B. Y., Thompson R. H., Lohse C. M., Leibovich B. C., Boorjian S. A., Chevillat J. C., Costello B. A. A novel prognostic model for patients with sarcomatoid renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2015;115:405–411. doi:10.1111/bju.12781.
- Tsu-Feng L., Wun-Rong L., Marcelo C. Compare Fuhrman Nuclear and Chromophobe Tumor Grade on Chromophobe RCC. *Open Med (Wars)*. 2019; 14: 336–342. doi: 10.1515/med-2019-0032.
- Liu N., Gan W., Qu F., Wang Z., Zhuang W., Agizamhan S., Xu L., Yin J., Guo H., Li D. Does the Fuhrman or World Health Organization/ International Society of Urological Pathology Grading System Apply to the Xp11.2 Translocation Renal Cell Carcinoma? *The American Journal of Pathology*. 2018;188(4): 929-936. doi:10.1016/j.ajpath.2017.12.018
- Williamson S. R., Taneja K., Cheng L. Renal cell carcinoma staging: pitfalls, challenges, and updates. *Histopathology*. 2019;74(1):18-30. doi:10.1111/his.13743.
- Yu W., Wang Y., Jiang Y., Zhang W., Li Y. Distinct immunophenotypes and prognostic factors in renal cell carcinoma with sarcomatoid differentiation: a systematic study of 19 immunohistochemical markers in 42 cases. *BMC Cancer*. 2017;17:293. doi: 10.1186/s12885-017-3275-8.
- Young S. K., Amiralí S., Christopher S. H., Jane D. C. H., Eric A. S. Renal Leiomyosarcoma: Case Report and Review of the Literature. *World J Nephrol Urol*. 2015; 4(2):213–217. doi: 10.14740/wjnu214w.
- El Chediak A., Mukherji D., Temraz S., Nassif S., Sinno S., Mahfouz R., Shamseddine A. Primary synovial sarcoma of the kidney: a case report of complete pathological response at a Lebanese tertiary care center. *BMC Urol*. 2018;18:40. doi:10.1186/s12894-018-0358-z.
- Dzmitry F., Edward D., Matthew C. O'Dell, Swetha V., Jeremy B. Solitary Fibrous Tumor of the Kidney: A Case Report and Literature Review. *J Cureus*. 2016;8(2):e490. doi: 10.7759/cureus.490.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Ситковская А. О., Росторгуев Э. Е., Тимофеева С. В., Межевова И. В., Филиппова С. Ю.,

Шамова Т. В., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (ФГБУ «НМИЦ онкологии»), 344037, ул. 14-линия, 63, г. Ростов-на-Дону, Россия

Для корреспонденции: Ситковская Анастасия Олеговна, Лаборатория клеточных технологий, ФГБУ «НМИЦ онкологии», e-mail: grankina.anastasia@mail.ru

For correspondence: Sitkovskaya Anastasia O., Acting Head Cell technology laboratories, National Medical Research Center for Oncology, e-mail: grankina.anastasia@mail.ru

Information about authors:

Sitkovskaya A. O., <https://orcid.org/0000-0002-6035-1756>

Rostorguev E. E., <https://orcid.org/0000-0003-4740-0274>

Timofeeva S. V., <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>

Mezhevova I. V., <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>

Filippova S. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>

Shamova T. V., <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>

Timoshkina N. N., <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>

Gvaldin D. Yu., <https://orcid.org/0000-0001-8633-2660>

РЕЗЮМЕ

Глиальные опухоли, в частности, состоящие из астроцитов, являются самой распространенной группой первичных опухолей головного мозга. Наиболее частой глиальной опухолью является астроцитомы. Стандартно биологию глиальных опухолей изучали на immortalized клеточных линиях. Однако многочисленные пассажы приводят к потере клеточной гетерогенности. Поэтому все больше научных лабораторий в своих исследованиях начинают применять первичные клеточные линии, полученные непосредственно из нативного послеоперационного материала больного. Остается открытым вопрос о сроке генетической стабильности первичных клеточных линий. Особым типом генетической нестабильности является микросателлитная нестабильность, влияющая на микросателлиты, обнаруженные по всему геному. Микросателлиты имеют несколько аллелей, которые определяются изменением числа повторов единицы мотива. Микросателлитная нестабильность имеет большое значение в онкогенезе злокачественных новообразований. Целью работы было исследование микросателлитной нестабильности первичных клеточных линий низкодифференцированных глиальных опухолей на разных пассажах в сравнении с первичным опухолевым материалом больного. В качестве материала для исследования использовали опухолевые клетки первичных культур анапластической астроцитомы и глиобластомы на разных пассажах. В качестве контроля для микросателлитного анализа использовали залитые в парафин слайды, фиксированные формалином (FFPE). Микросателлитный анализ был выполнен на первичных культурах анапластической астроцитомы и глиобластомы с использованием следующих маркеров: D17S250, D2S123, D5S346, NR21, NR24, NR27, BAT25, BAT26 методом ПЦР. В ходе микросателлитного анализа было показано, что первичные клеточные линии глиобластомы являются генетически более стабильными в сравнении с первичными клеточными линиями анапластической астроцитомы.

Ключевые слова: первичные клеточные линии глиальных опухолей, микросателлитная нестабильность.

RESEARCH OF MICROSATELLITE INSTABILITY IN PRIMARY CELL LINE LOW-DIFFERENTIATED GLIAL TUMORS

Sitkovskaya A. O., Rostorguev E. E., Timofeeva S. V., Mezhevova I. V., Filippova S. Yu.,
Shamova T. V., Timoshkina N. N., Gvaldin D. Yu.

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

SUMMARY

Glial tumors, in particular those composed of astrocytes, are the most common group of primary brain tumors. The most common glial tumor is astrocytoma. The biology of glial tumors was routinely studied on immortalized cell lines. However, multiple passages result in a loss of cellular heterogeneity. Therefore, more and more scientific laboratories in their research are beginning to use primary cell lines obtained directly from the patient's native postoperative material. The question of the timing of the genetic stability of primary cell lines remains open. A special type of genetic instability is microsatellite instability, which affects microsatellites found throughout the genome. Microsatellites have

several alleles, which are determined by changes in the number of repetitions of a motif unit. Microsatellite instability is of great importance in the oncogenesis of malignant neoplasms. The aim of this work was to study the microsatellite instability of primary cell lines of poorly differentiated glial tumors at different passages in comparison with the patient's primary tumor material. Tumor cells of primary cultures of anaplastic astrocytoma and glioblastoma at different passages were used as material for the study. Formalin-fixed paraffin wax (FFPE) slides were used as a microsatellite control. Microsatellite analysis was performed on primary cultures of anaplastic astrocytoma and glioblastoma using the following markers: D17S250, D2S123, D5S346, NR21, NR24, NR27, BAT25, BAT26 by PCR. Microsatellite analysis has shown that primary glioblastoma cell lines are genetically more stable than primary anaplastic astrocytoma cell lines.

Key words: primary cell lines of glial tumors, microsatellite instability.

В последние годы исследованиям в области онкологии отводится особое место в области медицинских наук. В 2019 году в России стартовал национальный проект «Здравоохранение», особое место в структуре которого отводится федеральному проекту «Борьба с онкологическими заболеваниями».

Глиальные опухоли, в частности, состоящие из астроцитов, являются самой распространенной группой первичных опухолей головного мозга (50%) [1]. Наиболее частой глиальной опухолью является астроцитомы. По уровню малигнизации астроцитарные злокачественные новообразования разделяются на: пилоидную (пилоцитарную) астроцитому, диффузную астроцитому, анапластическую астроцитому и глиобластому. К низкодифференцированным глиальным опухолям относят анапластическую астроцитому и глиобластому, при которой средняя продолжительность жизни составляет не более 15 месяцев [2].

Стандартно биологию глиальных опухолей изучали на иммортализованных (постоянных, бессмертных) клеточных линиях. Однако многочисленные пассажи приводят к потере клеточной гетерогенности, что дискредитирует данные о характере взаимодействия различных агентов на данные культуры клеток и затрудняет возможность их экстраполяции в клинические исследования [3]. Поэтому все больше научных лабораторий в своих исследованиях начинают применять первичные клеточные линии, полученные непосредственно из нативного послеоперационного материала больного [4]. Такие культуры клеток имеют ограниченное количество пассажей (8-12 пассажей) и сохраняют клеточную гетерогенность, характерную для опухоли *in vivo* [5]. Остается открытым вопрос о сроке генетической стабильности первичных клеточных линий.

Микросателлитные маркеры представляют собой полиморфные локусы ДНК с повторяющейся нуклеотидной последовательностью. Микросателлиты имеют несколько аллелей, которые определяются изменением числа повторов единицы мотива [6]. Принимая во внимание их мультиаллельные характеристики, они обладают

большей гетерозиготностью, чем однонуклеотидные полиморфизмы [7]. Микросателлиты являются результатом вставок или делеций мотивов, возникающих из-за ошибок во время рекомбинации или репликации ДНК [8]. Особым типом генетической нестабильности является микросателлитная нестабильность (MSI), влияющая на микросателлиты, обнаруженные по всему геному [9]. MSI – имеют важное значение в онкогенезе злокачественных новообразований [10]. Таким образом, исследование MSI на первичных клеточных линиях глиальных опухолей даст понимание об их генетической стабильности в сравнении с опухолью больного.

Целью работы было исследование микросателлитной нестабильности первичных клеточных линий низкодифференцированных глиальных опухолей на разных пассажах в сравнении с первичным опухолевым материалом больного.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования использовали опухолевые клетки первичных культур анапластической астроцитомы и глиобластомы на разных пассажах. В качестве контроля для микросателлитного анализа использовали залитые в парафин слайды, фиксированные формалином (FFPE). ДНК из слайдов выделяли с помощью набора для выделения ДНК GeneJET FFPE DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США). ДНК из первично культивируемых клеток выделяли с помощью коммерческого набора (AmpliSens, Россия) согласно стандартному протоколу «Выделение ДНК из биологического материала животных» с дополнительным приложением для культивированных клеток.

Микросателлитный анализ был выполнен на первичных культурах анапластической астроцитомы и глиобластомы с использованием следующих маркеров: D17S250, D2S123, D5S346, NR21, NR24, NR27, BAT25, BAT26 методом ПЦР. Реакционная смесь для ПЦР в общем объеме 20 мкл содержала 10–20 нг ДНК, 0,175 мкМ каждого праймера, 15 мМ MgCl₂, 2 мМ dNTP и 0,5U Taq-полимеразы. Условия реакции: 40 циклов при 94°C - 0,30 мин, 54°C - 0,30 мин и 70°C - 0,45 мин. Разделение ампликонов проводили с помо-

щью капиллярного гель-электрофореза (Applied Biosystems, Калифорния, США) в соответствии с протоколами производителя. Полученные данные были проанализированы с помощью пакетов программного обеспечения Gene Scan Analysis и Genotyper от Applied Biosystems.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микросателлитный анализ первичных клеточных линий глиобластом на разных пассажах не выявил статистически значимых различий, по сравнению с контролем. Однако в результате анализа в первичной культуре клеток анапластической астроцитомы после шестого пассажа наблюдалось изменение в локусе D17S250 (148-148/148-152) по сравнению с первичным материалом опухолевой ткани пациента.

Поскольку анапластическая астроцитома характеризуется высоким потенциалом злокачественности, то последующие изменения генотипа, вероятно, могут быть связаны с процессом малигнизации опухолевых клеток *in vitro*.

Тем не менее, глиобластома характеризуется наличием опухолевых клеток в терминальной стадии, и предположительно по этой причине при длительном культивировании изменений генотипа не наблюдалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе микросателлитного анализа было показано, что первичные клеточные линии глиобластомы являются генетически более стабильными в сравнении с первичными клеточными линиями анапластической астроцитомы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

Соблюдение этических норм. Работа была одобрена этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, протокол № 33/1 от 29.11.2018 г. Все пациенты подписывали информированное согласие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трашков А. П., Спиринов А. Л., Цыган Н. В., Артеменко М. Р., Печатникова В. А., Верлов Н. А. Глиальные опухоли головного мозга: общие принципы диагностики и лечения. *Педиатр.* 2015;6(4):75-84.
2. Cloughesy T. F., Cavenee W. K., Mischel P. S. Glioblastoma. From Molecular Pathology to Targeted Treatment. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2014;9:1-25.
3. Zschenker O., Streichert T., Hehlhans S., Cordes N. Genome-wide gene expression analysis in cancer cells reveals 3D growth to affect ECM and processes

associated with cell adhesion but not DNA repair. *PLoS ONE.* 2012;7:e34279. doi: 10.1371/journal.pone.0034279

4. Allen M., Bjerke M., Edlund H., Nelander S., Westermark B. Origin of the U87MG glioma cell line: Good news and bad news. *Sci. Transl. Med.* 2016;8:354re353. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf6853.

5. Межевова И. В., Ситковская А. О., Кит О. И. Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания *in vitro*. *Южно-российский онкологический журнал.* 2020;1(3):36-49. doi:10.37748/2687-0533-2020-1-3-4.

6. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet.* 2004;5:435-450.

7. Wan Q. H., Wu H., Fujihara T., Fang S. G. Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis.* 2004;25:2165-2176.

8. Anderson G. R., Brenner B. M., Swede H., Chen N., Henry W. M., Conroy J. M., Karpenko M. J., Issa J. P., Bartos J. D., Brunelle J. K., Jahreis G. P., Kahlenberg M. S., Basik M., Sait S., Rodriguez-Bigas M. A., Nowak N. J., Petrelli N. J., Shows T. B., Stoler D. L. Intrachromosomal genomic instability in human sporadic colorectal cancer measured by genome-wide allelotyping and in inter-(simple sequence repeat) PCR. *Cancer Res.* 2001;61:8274-8283.

9. Кит О. И., Водолажский Д. И., Колесников Е. Н., Тимошкина Н. Н., Ефимова И. Ю. Микросателлитная нестабильность как молекулярно-генетический маркер нарушения системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов при раке пищевода. *Сибирский онкологический журнал.* 2016;15(6):70-78. doi:10.21294/1814-4861-2016-15-6-70-78.

10. Canzian F., Salovaara R., Hemminki A., Kristo P., Chadwick R. B., Aaltonen L. A., de la Chapelle A. Semiautomated Assessment of Loss of Heterozygosity and Replication Error in Tumors. *Cancer Res.* 1996;56:3331-3337.

REFERENCES

1. Trashkov A. P., Spirin A. L., Tsygan N. V., Artemenko M. R., Pechatnikova V. A., Verlov N. A. Glioblastoma: general principles of diagnosis and treatment. *Pediatr.* 2015;6(4):75-84. (In Russ).
2. Cloughesy T. F., Cavenee W. K., Mischel P. S. Glioblastoma. From Molecular Pathology to Targeted Treatment. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2014;9:1-25.
3. Zschenker O., Streichert T., Hehlhans S., Cordes N. Genome-wide gene expression analysis in cancer cells reveals 3D growth to affect ECM and processes associated with cell adhesion but not DNA repair. *PLoS ONE.* 2012;7:e34279. doi: 10.1371/journal.pone.0034279
4. Allen M., Bjerke M., Edlund H., Nelander S., Westermark B. Origin of the U87MG glioma cell line: Good news and bad news. *Sci. Transl. Med.* 2016;8:354re353. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf6853.
5. Mezhevova I. V., Sitkovskaya A. O., Kit O. I. Primary cultures of tumor cells: modern methods of

production and maintenance in vitro. South-Russian journal of oncology. 2020;1(3):36-49. doi:10.37748/2687-0533-2020-1-3-4. (In Russ).

6. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet.* 2004;5:435–450.

7. Wan Q.H., Wu H., Fujihara T., Fang S.G. Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis.* 2004;25:2165–2176.

8. Anderson G. R., Brenner B. M., Swede H., Chen N., Henry W. M., Conroy J. M., Karpenko M. J., Issa J. P., Bartos J. D., Brunelle J. K., Jahreis G. P., Kahlenberg M. S., Basik M., Sait S., Rodriguez-Bigas M. A., Nowak N. J., Petrelli N. J., Shows T. B., Stoler D. L. Intrachromosomal genomic instability b human sporadic

colorectal cancer measured by genome-wide allelotyping and in inter-(simple sequence repeat) PCR. *Cancer Res.* 2001;61:8274-8283.

9. Kit O. I., Vodolazhsky D. I., Kolesnikov E. N., Timoshkina N. N., Efimova I. Yu. Microsatellite instability as a molecular genetic marker of the violation of the mismatched nucleotide repair system in esophageal cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2016;15(6):70–78. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-6-70-78. (In Russ).

10. Canzian F., Salovaara R., Hemminki A., Kristo P., Chadwick R. B., Aaltonen L. A., de la Chapelle A. Semiautomated Assessment of Loss of Heterozygosity and Replication Error in Tumors. *Cancer Res.* 1996;56:3331–3337.

УДК 616-092.19

DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-43-47

БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТочНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НАГРУЗКИ С АТФ IN VITRO

Скоркина М. Ю., Жернакова Н. И., Шевченко Т. С., Зеленцова А. С.

ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет Министерство науки и высшего образования, 308015, ул. Победы, 85, Белгород, Россия

Для корреспонденции: Скоркина Марина Юрьевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой биохимии медицинского института Белгородского государственного национального исследовательского университета, e-mail: skorkina@bsu.edu.ru

For correspondence: Skorkina Marina Yu., MD, Associate Professor, Head of the Department of Biochemistry of Medical Institute of Belgorod State National Research University, e-mail: skorkina@bsu.edu.ru

Information about authors:

Skorkina M. Yu., <http://orcid.org/0000-0002-9441-5295>

Zhernakova N. I., <http://orcid.org/0000-0001-7648-0774>

Shevchenko T. S., <http://orcid.org/0000-0001-7327-2662>

Zelentsova A. S., <http://orcid.org/0000-0001-6022-0206>

РЕЗЮМЕ

Выполненное исследование посвящено изучению биофизических свойств клеточной поверхности и функциональной активности гранулоцитов больных острым лимфобластным лейкозом при моделировании нагрузки с АТФ in vitro. Эксперимент был выполнен на периферической крови больных острым лимфобластным лейкозом, прошедших стандартный курс химиотерапии. В опытных пробах моделировали экзогенную нагрузку с АТФ in vitro, добавляя 100,0 мМ аденозин-5-трифосфат динатриевая соль тригидрат к суспензии гранулоцитов. Инкубацию с препаратом проводили в течение 15 мин. при 37°C. В качестве контроля использовали суспензию гранулоцитов в среде RPMI 1640 от того же больного, но без добавления препарата, которую инкубировали в течение 15 мин. при температуре 37°C. По истечении времени инкубации изучали биофизические свойства (жесткость, заряд клеточной поверхности, силу межклеточной адгезии) гранулоцитов в опытных и контрольных пробах, используя метод атомно-силовой микроскопии, а также оценивали миграционную активность клеток в прямом капиллярном тесте под агарозой. На модели с экзогенной АТФ у больных ОЛЛ установлено снижение жесткости и потенциала поверхности плазмалеммы, усиление адгезивных свойств и миграционной активности гранулоцитов. Выявленные эффекты указывают на ключевую роль молекулы АТФ в механизмах межклеточной сигнализации в микроциркуляторном русле.

Ключевые слова: гранулоциты, модуль Юнга, адгезия, заряд клеточной поверхности, миграция.

BIOPHYSICAL PROPERTIES OF CELL SURFACE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA DURING MODELING OF ATP LOAD IN VITRO

Skorkina M. Yu., Zhernakova N. I., Shevchenko T. S., Zelentsova A. S.

Belgorod State National Research University

SUMMARY

The current study is devoted to the investigation of the biophysical properties of the cell surface and the functional activity of granulocytes in patients with acute lymphoblastic leukemia when simulating the ATP load in vitro. The experiment was performed on the peripheral blood of patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) who underwent a standard course of chemotherapy. In experimental tests, exogenous loading with ATP was simulated in vitro by adding 100.0 μM adenosine-5-triphosphate disodium salt trihydrate to the granulocyte suspension. Incubation with the drug was carried out for 15 min at 37°C. As a control, a suspension of granulocytes in RPMI 1640 medium from the same patient, but without the addition of the drug, was used, this was incubated for 15 min at a temperature of 37°C. After the incubation time, the biophysical properties (rigidity, charge of the cell surface, the strength of intercellular adhesion) of granulocytes in experimental and control samples were studied using atomic force microscopy, and the migration activity of cells was also assessed in a direct capillary test under agarose. A model with exogenous ATP in ALL patients showed a decrease in the rigidity and potential of the plasma membrane surface, an increase in the adhesive properties and migration activity of granulocytes. The revealed effects point to the key role of the ATP molecule in the mechanisms of intercellular signaling in the microvasculature.

Key words: granulocytes, Young's module, adhesion, charge of cell surface, migration.

Развитие иммунной недостаточности у больных со злокачественными лимфопролиферативными процессами в системе крови сопровождается клональной пролиферацией лимфоидных клеток с молекулярными аномалиями в виде генных аббераций и мутаций, в результате чего изменяются процессы транскрипции, нарушается способность контролировать клеточный цикл и продуцировать ряд ключевых белков [1]. В этих условиях гранулоциты выступают основным звеном, осуществляющим реакции клеточного врожденного иммунитета на фоне недостаточности адаптивного иммунитета. Следовательно, важным аспектом является изучение функциональных свойств плазмалеммы гранулоцитов, которая активно участвует в межклеточной коммуникации за счет рецепторного аппарата. На поверхности биомембраны происходит сигнальная трансдукция – переключение внешних сигналов во внутренние, в результате чего формируется скоординированный ответ, направленный на эффективное выполнение гранулоцитами своих функций.

Универсальным мессенджером в механизмах межклеточной коммуникации между опухолевыми и здоровыми клетками выступает внеклеточная молекула АТФ. Известно, что концентрация АТФ во внеклеточной среде опухоли находится в диапазоне сотни микромолей, тогда как в здоровых тканях обнаруживаются субмикромольные количества [2]. Согласно данным литературы, рост злокачественной опухоли сопровождается выраженной воспалительной реакцией, формированием диффузных некротических очагов, в результате накопления АТФ во внеклеточной среде [3]. При этом, рядом работ установлено, что АТФ стимулирует хемотаксис нейтрофилов [4] и вызывает значительную задержку апоптоза нейтрофилов, который опосредуется через рецепторы P2Y₁₁ [5]. В связи с вышеизложенным, актуальным является изучение биофизических свойств плазмалеммы иммунных клеток в условиях опухолевого роста в системе крови. Целью выполненного исследования явилось изучить изменения биофизических свойств плазмалеммы гранулоцитов больных острым лимфобластным лейкозом при моделировании экзогенной нагрузки АТФ *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперимент отбирали кровь больных острым лимфобластным лейкозом (n=20) в возрасте от 25 до 45 лет, поступивших на лечение в гематологическое отделение областной клинической больницы г. Белгорода. Постановку диагноза и взятие крови осуществляли при непосредственном участии врачей клиницистов.

Больным был проведен стандартный курс химиотерапии, бластные формы в периферической крови отсутствовали.

Кровь собрали в вакуумные пробирки Vacuette КЗЕ, содержащие сухую ЭДТА КЗ в концентрации 2,0 мг (0,006843 моль/литр) на 1 мл крови. Исследования выполнены с соблюдением требований Хельсинской декларации, получено предварительное информированное согласие участников эксперимента в соответствии с рекомендациями¹.

Суспензию гранулоцитов получали путем центрифугирования цельной крови при 1500 об./мин в течение 15 мин. Клетки отбирали и ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 (ПанЭко, Россия). Каждую пробу делили на две части – контрольную и опытную. В опытных пробах моделировали экзогенную нагрузку с АТФ *in vitro*, добавляя 100,0 мМ аденозин-5-трифосфат динатриевая соль тригидрат (АТФ-Na₂×3H₂O) (Sigma) к суспензии гранулоцитов. Инкубацию с препаратом проводили в течение 15 мин при 37°C. В качестве контроля использовали суспензию гранулоцитов в среде RPMI 1640 от того же больного, но без добавления препарата, которую инкубировали в течение 15 мин при температуре 37°C.

По истечении времени инкубации изучали биофизические свойства (жесткость, заряд клеточной поверхности, силу межклеточной адгезии) гранулоцитов в опытных и контрольных пробах, используя метод атомно-силовой микроскопии. Для оценки жесткости клеточной поверхности измеряли модуль Юнга на атомно-силовом микроскопе (АСМ) ИНТЕГРА ВИТА (конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71) в режиме силовой спектроскопии, согласно алгоритму, описанному в работе [6]. Из каждой пробы сканировали по 20 клеток. В целом, в эксперименте отсканировано по 400 клеток и получено 800 силовых кривых подвода и отвода в опытной и контрольной группах.

Заряд клеточной мембраны оценивали по данным потенциала поверхности, который измеряли на атомно-силовом микроскопе в режиме моды Кельвина. Готовили суспензию гранулоцитов, которую отмывали изотоничным раствором хлорида натрия в течение 5 мин, затем фиксировали 0,25% раствором глутарового альдегида в течение 20 мин. После фиксации суспензию гранулоцитов дважды отмывали изотоничным раствором хлорида натрия по 5 мин и готови-

¹ Декларация по этическим принципам медицинских исследований, в которых участвуют люди, принятая 52-ой Генеральной Ассамблеей Всемирной Медицинской Ассоциации, Эдинбург, Шотландия, октябрь, 2000 г.

ли препараты на обезжиренной металлической подложке. Для сканирования использовали кантилеверы с токопроводящим титановым покрытием серии NSG03/TiN (Nanoworld, США). Из каждой пробы сканировали по 20 гранулоцитов. Расчет потенциала поверхности и обработку полученных сканов осуществляли в программе Nova (NT-MDT, Россия).

Силу межклеточной адгезии измеряли на АСМ в режиме силовой спектроскопии, используя для сканирования биосенсорный чип, изготовленный на основе нативного эритроцита и типлесса CSG11 (Nanoworld, США) согласно способу, изложенному в работе [7]. Силу адгезии измеряли в системе «эритроцит-гранулоцит», регистрируя силовые кривые с поверхности 20 клеток. Расчет данных осуществляли с помощью программного обеспечения Nova (NT-MDT, Зеленоград, 2009).

Миграционную активность гранулоцитов определяли в прямом капиллярном тесте под агарозой. Предварительно оценивали жизнеспособность клеток с помощью счетчика и анализатора жизнеспособности клеток Countress II Automated Cell Counter (Thermo, Life Technologies, США

2019), добавляя к 1 мкл клеточной суспензии 5 мкл 0,4% раствора трипанового синего (Invitrogen, США). В эксперименте работали с пробами с жизнеспособностью лейкоцитарной суспензии не менее 95%. Подсчет мигрировавших клеток в 1 мкл среды проводили в 25 больших квадратах сетки счетной камеры Горяева под большим увеличением (окуляр 20х, объектив 40х).

Результаты экспериментальных исследований обработаны методами вариационной статистики. Достоверность различий между контрольными и опытными пробами определяли с использованием *t* критерия Стьюдента при $p < 0,05$ в случае нормального распределения признака и *U*-критерия Манна-Уитни при $p < 0,05$ для непараметрических данных. В работе приведены средние величины (*M*) и величины статистической ошибки средней (*m*).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В условиях экзогенной нагрузки с АТФ жесткость гранулоцитов снизилась на 71,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл.1).

Таблица 1

Биофизические свойства гранулоцитов больных острым лимфобластным лейкозом

Параметр	Контроль (n = 400)	Опыт (n = 400)
Модуль Юнга гранулоцитов, мПа	2,441 ± 0,056	0,699 ± 0,015*
Сила адгезии «эритроцит-гранулоцит», нН	52,8 ± 1,3	184,5 ± 9,8**
Потенциал поверхности лейкоцитов, мВ	-21,49 ± 1,19	-37,74 ± 1,14*
% мигрировавших гранулоцитов	8,9 ± 0,5	37,3 ± 1,2*

Примечания: n – количество просканированных клеток, * статистически значимые различия между показателями по *t*-критерию Стьюдента ($p < 0,05$); **статистически значимые различия между показателями по *U*-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$); n – количество просканированных клеток.

Сила адгезии между эритроцитом и гранулоцитом в опытной группе возросла в 3,5 раза, при этом заряд клеточной поверхности стал более отрицательным и снизился на 43% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Существенное изменение биофизических свойств плазмалеммы отразилось на их миграционной активности. Согласно данным таблицы, процент мигрировавших гранулоцитов в условиях экзогенной нагрузки с АТФ увеличился на 76,14 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

ОБСУЖДЕНИЕ

В выполненном исследовании в качестве естественной модели опухолевого процесса выбран острый лимфобластный лейкоз на стадии лечения, при котором в периферической крови отсутствовали бластные формы. В этих условиях поверхность гранулоцитов, как непо-

средственных участников иммунных реакций и межклеточных коммуникаций, подвергалась модификациям при проведении стандартных химиотерапевтических схем лечения. В результате проведенного эксперимента проанализировано изменение биофизических свойств плазмалеммы и миграционной активности гранулоцитов больных ОЛЛ при моделировании экзогенной нагрузки с АТФ *in vitro*.

Под влиянием экзогенной молекулы АТФ установлено существенное снижение модуля Юнга, характеризующего жесткость клеточной поверхности. Выявленные изменения мы связываем с реализацией сигнального каскада с участием ионов Ca^{2+} . Согласно данным литературы, активация P2 рецепторов на клеточной поверхности индуцируют увеличение внутриклеточного Ca^{2+} в нейтрофилах человека и способствует разборке полимеризованного актина [8], что

приводит к снижению концентрации актин сшивающих белков [9]. Изменение упруго-эластических свойств тесно связаны с миграционной активностью клетки. Под влиянием внеклеточной АТФ установлено усиление миграционной активности гранулоцитов. Полученные результаты согласуются с данными, согласно которым доказана регулирующая функция внеклеточной АТФ, посредством влияния на P2X7 рецептор, в результате изменяется активность селектина и миграция нейтрофилов [10]. Кроме того, под влиянием экзогенной нагрузки с АТФ изменились заряд и сила межклеточной адгезии. Более отрицательный заряд и усиление адгезивных свойств плазмалеммы, на фоне увеличения миграционной активности, указывают на ключевую роль внеклеточной АТФ в развитии воспаления в сосудистой стенке [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в смоделированном на грузочном тесте с экзогенной АТФ у больных ОЛЛ, прошедшим лечение стандартным курсом химиотерапии, установлено снижение жесткости и потенциала поверхности плазмалеммы, усиление адгезивных свойств и миграционной активности гранулоцитов. Выявленные эффекты указывают на ключевую роль молекулы АТФ в механизмах межклеточной сигнализации в микроциркуляторном русле.

Источники финансирования работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00032\20.

Acknowledgements. The reported study was funded by the Russian Foundation of Basic Research (RFBR) according to the research project № 18-015-00032\20.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долинский Д. А. Молекулярные механизмы лейкогенеза. Основы таргетной терапии. Онкогематология. 2012;(1):46-54.
2. Pellegatti P., Raffaghello L., Bianchi G., Piccardi F., Pistoia V., Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: in vivo imaging with plasma membrane luciferase. PLoS ONE. 2008;3(7): e2599. doi:10/1371/journal.pone.0002599.
3. Di Virgilio F. Purines, purinergic receptors, and cancer. Cancer Res. 2012; 72(21):1–7. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-1600.

3. Junger W. G. Purinergic regulation of neutrophil chemotaxis. Cell Mol. Life Sci. 2008;65(16):2528–2540. doi:10.1007/s00018-008-8095-1.

4. Vaughan K. R., Stokes L., Prince L. R., Marriott H. M., Meis S., Kassack M. U., Bingle C. D., Sabroe I., Surpurnant A., Whyte M. K. B. Inhibition of neutrophil apoptosis by ATP is mediated by the P2Y11 receptors. J. Immunol. 2007;179(12):8544–8553. doi:10.4049/jimmunol.179.12.8544.

5. Скоркина М. Ю., Федорова М. З., Муравьев А. В. и др. Использование наномеханического сенсора для изучения морфофункциональных свойств лимфоцитов здоровых доноров и больных хроническим лимфобластным лейкозом. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012;(3):172-175.

6. Скоркина М. Ю., Шамрай Е. А., Сладкова Е. А. Измерение сил адгезии в системе «клетка-клетка» на основе технологий атомно-силовой микроскопии. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2017;(4):213–215.

7. Chen Yu., Corriden R., Inoue Y., Yip L., Hashiguchi, Zinjernagel A., Nizet V., Insel P.A., Junger W.G. ATP release guides neutrophil chemotaxis via P2Y2 and A3 receptors. Science. 2006; 314 (5806): 1792-1795. doi:10.1126/science.1132559.

8. Goldman N., Chandler-Militello D., Langevin H., Nedergaard M., Takano T. Purine receptor mediated actin cytoskeleton remodeling of human fibroblasts. Cell Calcium. 2013; 53 (4): 297-301. doi:10.1016/j.ceca.2013.01.004.

9. Yap B., Kamm R.D. Cytoskeletal remodeling and cellular activation during reformation of neutrophils into narrow channels. J. Appl. Physiol. 2005;99(6):2323-2330. doi: 10.1152/jappphysiol.00503.2005.

10. Ley K., Laudanna C., Cynulsky M.I., Nourshargh S. Getting to the site of inflammation the leukocyte adhesion cascade updated. Nat. Rev. Immunol. 2007;7:678-689. doi: 10.1038/nri2156.

11. Lohman A.W., Billaud M., Isakov B.E. Mechanisms of ATP release and signaling in the blood vessel wall. Cardiovascular Research. 2012;95:269-280. doi: 10.1093/cvr/cvs187.

REFERENCES

1. Dolinskii D.A. Molecular mechanisms of leukogenesis. The basis of target therapy. Oncohaematology. 2012;(1):46-54. (In Russ.).
2. Pellegatti P., Raffaghello L., Bianchi G., Piccardi F., Pistoia V., Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: in vivo imaging with plasma membrane luciferase. PLoS ONE. 2008; 3 (7): e2599. doi:10/1371/journal.pone.0002599.
3. Di Virgilio F. Purines, purinergic receptors, and cancer. Cancer Res. 2012; 72(21):1–7. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-1600.

3. Junger W.G. Purinergic regulation of neutrophil chemotaxis. *Cell Mol. Life Sci.* 2008; 65(16): 2528–2540. doi: 10.1007/s00018-008-8095-1.
4. Vaughan K.R., Stokes L., Prince L.R., Marriott H.M., Meis S., Kassack M.U., Bingle C.D., Sabroe I., Surprenant A., Whyte M.K.B. Inhibition of neutrophil apoptosis by ATP is mediated by the P2Y11 receptors. *J. Immunol.* 2007;179(12):8544–8553. doi:10.4049/jimmunol.179.12.8544.
5. Skorkina M.Yu., Fedorova M.Z., Muravyov A.V., Sladkova E.A. Use of nanomechanic sensor for studies of lymphocytes from healthy donors and patients with chronic lymphoblastic leukemia. *Cell Technologies in Biology and Medicine.* 2012;(3):172-175. (in Russ.)
6. Skorkina M.Yu., Shamray E.A., Sladkova E.A. Measuring of adhesive forces in the system of «cell-cell» based on the technology of atomic force microscopy. *Cellular technology in biology and medicine.* 2017;(4):213-215. (In Russ.)
7. Chen Yu., Corriden R., Inoue Y., Yip L., Hashiguchi, Zinjernagel A., Nizet V., Insel P.A., Junger W.G. ATP release guides neutrophil chemotaxis via P2Y2 and A3 receptors. *Science.* 2006;314(5806):1792-1795. doi:10.1126/science.1132559.
8. Goldman N., Chandler-Militello D., Langevin H., Nedergaard M., Takano T. Purine receptor mediated actin cytoskeleton remodeling of human fibroblasts. *Cell Calcium.* 2013; 53(4):297-301. doi:10.1016/j.ceca.2013.01.004.
9. Yap B., Kamm R.D. Cytoskeletal remodeling and cellular activation during reformation of neutrophils into narrow channels. *J. Appl. Physiol.* 2005;99(6):2323-2330. doi: 10.1152/jappphysiol.00503.2005.
10. Ley K., Laudanna C., Cybulsky M.I., Nourshargh S. Getting to the site of inflammation the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat. Rev. Immunol.* 2007;7:678-689. doi:10.1038/nri2156.
11. Lohman A.W., Billaud M., Isakov B.E. Mechanisms of ATP release and signaling in the blood vessel wall. *Cardiovascular Research.* 2012;95:269-280. doi: 10.1093/cvr/cvs187.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОФАГОВ КОЖИ В УСЛОВИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СЕПСИСА

Шаповалова Е. Ю.¹, Демьяшкин Г. А.², Маланичев М. Ю.^{1,3}, Погосян Д. А.^{1,3}, Зорин И. А.²,

Щекин В. И.².

¹ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, Симферополь, Россия

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия.

³Клиника пластической хирургии и косметологии «Фрау Клиник», Москва, Россия.

Для корреспонденции: Демьяшкин Григорий Александрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии им. академика А. И. Струкова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory A. Demyashkin, PhD, Associate Professor of the Department of Pathology of the I.M. Sechenov First MSMU (Sechenov University), e-mail: dr.dga@mail.ru

Information about authors:

Shapovalova Ye. Yu., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Malanichev M. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-3043-2739>

Pogosyan D. A., <https://orcid.org/0000-0003-3304-0968>

Zorin I. A., <https://orcid.org/0000-0002-1621-7015>

Shchekin V. I., <https://orcid.org/0000-0003-3763-7454>

РЕЗЮМЕ

Пусковым звеном в нарушении иммунного ответа при сепсисе является выделение большого количества про- и противовоспалительных медиаторов, в первую очередь цитокинов и других биологически активных веществ. Несмотря на то, что проведено достаточное количество исследований, в которых отмечали увеличение количества цитокинов при сепсисе, но при этом отсутствуют работы по изучении аналогичных изменений в коже, которая является самым большим защитным барьером в организме, и, соответственно, играет значительную роль в поддержании иммунного гомеостаза. Цель: оценка экспрессии про- и противовоспалительных медиаторов кожи в условиях экспериментального сепсиса. Материалы и методы: в качестве экспериментальных животных использовали мышей, которым выполнили CLP-процедуру. Объект исследования – кожа, которую изучали при помощи иммуногистохимического метода (антитела к TNF- α , TGF- α , IL-12, IL-10, IL-6, CD206, CD163, CD68). Результаты. При сепсисе обнаружили увеличение доли иммунопозитивных клеток в эпидермисе и дерме: TNF- α (33,1 \pm 1,2%); TGF- α (35,3 \pm 1,4%); IL-12 (6,8 \pm 0,3%); IL-10 (9,2 \pm 0,9%); IL-6 (28,2 \pm 0,8%); CD206 (12,9 \pm 0,7%); CD163 (16,1 \pm 0,8%); CD68 (28,4 \pm 0,9%). Заключение. Увеличение количества провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при сепсисе свидетельствует о вовлечении эпидермиса в общий воспалительный процесс, за счет смещения цитокинового равновесия в сторону преобладания провоспалительных медиаторов и M1-макрофагов.

Ключевые слова: сепсис, кожа, воспаление, цитокины, макрофаги, интерлейкины.

IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF SKIN MACROPHAGES IN EXPERIMENTAL SEPSIS

Shapovalova Ye. Yu.¹, Demyashkin G. A.², Malanichev M. Y.^{1,3}, Pogosyan D. A.^{1,3}, Zorin I. A.²,

Shchekin V. I.².

¹S. I. Georgievsky Medical Academy of the Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Russia.

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia.

³Clinic of Plastic Surgery and Cosmetology «Frau Clinics», Moscow, Russia.

SUMMARY

The trigger in the violation of the immune response in sepsis is the release of a large number of pro- and anti-inflammatory mediators, primarily cytokines and other biologically active substances. Despite the fact that a sufficient number of studies have been carried out in which an increase in the amount of cytokines in sepsis has been noted, there is no work on the study of similar changes in the skin, which is the largest protective barrier in the body, and, accordingly, plays a significant role in maintaining the immune homeostasis.

The aim of the study was to assess the expression of pro- and anti-inflammatory skin mediators in experimental sepsis.

Materials and Methods. Mice were used as experimental animals, which underwent surgery CLP. The object of the study is the skin, which was studied using the immunohistochemical method (antibodies to TGF- α , TGF- β , IL-12, IL-10, IL-6, CD206, CD163, CD68). **Results.** In case of sepsis, an increase in the proportion of immunopositive cells in the epidermis and dermis was found: TNF- α (33.1 \pm 1.2%); TGF- α (35.3 \pm 1.4%); IL-12 (6.8 \pm 0.3%); IL-10 (9.2 \pm 0.9%); IL-6 (28.2 \pm 0.8%); CD206 (12.9 \pm 0.7%); CD163 (16.1 \pm 0.8%); CD68 (28.4 \pm 0.9%). **Conclusion.** An increase in the number of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in sepsis indicates the involvement of the epidermis in the general inflammatory process, due to a shift in the cytokine balance towards the predominance of pro-inflammatory mediators and M1-macrophages.

Key words: sepsis, skin, inflammation, cytokines, macrophages, interleukins.

По современным представлениям, сепсис – это крайне опасная для жизни полиорганная дисфункция, вызванная нарушением иммунного статуса, при котором неадекватный иммунный ответ на инфекционный процесс повреждает органы и ткани организма-хозяина [1]. Пусковым звеном в нарушении иммунного ответа является выделение большого количества про- и противовоспалительных медиаторов, в первую очередь, цитокины и другие биологически активные вещества [2].

Цитокиновое равновесие является одним из основных факторов стабильности кожного барьера. Так, изменение уровня TNF- α , ответственного за регенерацию, приводит к ослаблению барьерной функции [3]. TGF- α стимулирует миграцию эндотелиоцитов, а также ингибирует пролиферацию кератиноцитов и замедляет реэпителизацию при заживлении ран [4]. IL-6, наоборот, ускоряет пролиферацию кератиноцитов, стимулирует ангиогенез и синтез коллагена. Стоит отметить, что в настоящее время остаётся неясной роль IL-10 и IL-12 в здоровой коже, однако имеются данные, в которых показана важность этих белков в патогенезе ряда воспалительных кожных заболеваний [5; 6].

Макрофаги моноцитарного происхождения подвергаются специфической дифференцировке в зависимости от местного тканевого окружения и приобретают одну из форм поляризации [7; 8]. В специализированной литературе наибольшее распространение получила M1/M2-классификация активированных макрофагов, хотя в последние годы ведутся активные дискуссии о необходимости более детального разграничения [9]. Фенотип M1-макрофагов характеризуется продукцией провоспалительных цитокинов, способностью преодолевать резистентность патогена, сильной микробицидной активностью и стимуляцией Th1-опосредованного иммунного ответа. В свою очередь M2-макрофаги, наоборот, вовлечены в борьбу с паразитами, ремоделирование тканей, иммунную регуляцию, рост опухолей и оказывать эффективный фагоцитарный ответ

[10]. Липополисахарид, ИФН-гамма и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор запускают поляризацию в сторону M1-макрофагов, которая приводит к активному выбросу цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-12, IL-23) и различных хемокинов (CCL-10, CCL-11, CCL-2, CCL-3). Специфическими маркерами M1-фенотипа является продукция ряда белков, таких как: CD68, CD86, CD80. Активация M2-макрофагов индуцирована различными интерлейкинами, факторами роста, грибковой инфекцией или гельминтами. Специфическими маркерами M2 макрофагов являются мембранные рецепторы : CD206, CD163. Поляризованные в сторону M2 клетки Лангерганса показывают высокий уровень экспрессии IL-10 и TGF- α .

Несмотря на то, что проведено достаточное количество исследований, в которых отмечали увеличение количества цитокинов при сепсисе, но при этом отсутствуют работы по изучению аналогичных изменений в коже, которая является самым большим защитным барьером в организме, и, соответственно, играет значительную роль в поддержании иммунного гомеостаза.

Для более точного понимания этих патоморфологических изменений необходимо оценить уровень провоспалительных и противовоспалительных белков, участвующих в регуляции иммунного ответа, а также определить фенотип макрофагов. Таким образом, на основании определения местного уровня провоспалительных и противовоспалительных медиаторов и установления превалирующих кластеров дифференцировки макрофагов, можно значительно расширить представление о морфологических процессах в коже при сепсисе.

Цель: оценка экспрессии про- и противовоспалительных медиаторов кожи в условиях экспериментального сепсиса.

Исходя из вышеописанного, для нашего исследования были поставлены следующие задачи – изучить роль цитокинов (TNF- α , TGF- α , IL-12, IL-10, IL-6) и определение фенотипа макрофагов, посредством изучения дифференцировочных антигенов (CD68, CD206, CD163).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное морфологическое исследование проводили на базе Медицинской академии имени С. И. Георгиевского.

Модель животных для исследования *in vivo*

В качестве экспериментальных животных использовали половозрелых мышей популяции C57BL/6 (30 – 35 г; 12 недель; n=40). Животные содержались в виварии; все манипуляции осуществляли согласно Международным рекомендациям и Руководствам по проведению медико-биологических исследований по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS) и Правилам лабораторной практики и приказу Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Для создания сепсиса использовали модель экспериментального перитонита – лигирование и пункция слепой кишки (Cecal Ligation and Puncture, CLP) [11].

В качестве контрольной группы использовали половозрелых мышей популяции C57BL/6 (n=10). Объект исследования в обеих группах – кожа.

Морфологическое исследование

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Bond-Max («Leica», Германия). Первичные антитела: к TNF-а (TNF-а; Clone 52B83, 1:50), TGF-а (TGF-а; Clone EPR21143, 1:500), IL-12 (IL-12; Clone EP5737, 1:800), IL-10 (IL-10; Clone JES5-2A5,

1:300), IL-6 (IL-6; Clone EPR6483, 1:100), CD206 (CD206; Clone EPR22489-7, 1:4000), CD163 (CD163; Clone EPR19518, 1:500), CD68 (CD68; Clone C68/684, 1:200); вторичные – универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США).

Характер иммуногистохимических реакций оценивали, используя полуколичественную шкалу по 3-балльной системе с подсчетом количества иммунопозитивных клеток в 10 случайно отобранных полях зрения при увеличении ×400 (в %): «-» отсутствие, «+» слабая (5 – 25% клеток), «++» умеренная (25 – 50% клеток), «+++» выраженная (≥51% клеток).

Полученные данные обрабатывали при помощи компьютерной программы SPSS 10.0 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США) и вычислением средней арифметической, ошибки средней, критерия Стьюдента. Значимыми считали различия между средними показателями при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на имеющиеся данные специализированной научной литературы, патологические процессы в коже при сепсисе остаются малоизученными.

Во всех исследуемых образцах кожи животных обнаружили положительную иммуногистохимическую реакцию на исследуемые маркеры, но степень её выраженности при сепсисе выше по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Таблица 1
Доля иммунопозитивных клеток кожи мышей при системном воспалении и в здоровой коже (в процентах)

Маркер	Кожа при сепсисе (I группа)	Здоровая кожа (II группа)
TNF-а	33,1±1,2	22,4±1,1
TGF-В	35,3±1,4	27,2±1,2
IL-12	6,8±0,3	3,2±0,3
IL-10	9,2±0,9	4,2±0,2
IL-6	28,2±0,8	6,2±0,2
CD206	12,9±0,7	6,8±0,6
CD163	16,1±0,8	8,9±0,8
CD68	28,4±0,9	11,2±1,3

В контрольной группе наблюдали слабое диффузное окрашивание на TNF-а преимущественно базальных кератиноцитов. При сепсисе происходило резкое увеличение доли иммунопозитивных клеток в 1,5 раза в эпителиоцитах базального слоя и клетках сосочкового слоя дермы (лимфоцитов и макрофагов) (рис.1).

В настоящее время было проведено достаточное количество исследований, которые показывают, что фактор некроза опухоли играет важнейшую роль в защитных реакциях организма, но при длительной секреции становится одним из ключевых факторов развития хронических воспалительных заболеваний [3]. В нашем ис-

следовании было показано, что $TNF-\alpha$, который характеризуется слабой экспрессией в эпидермисе контрольной группы, резко увеличивается при сепсисе, что, по всей видимости, говорит о возможности эпидермоцитов и клеток дермы самостоятельно вырабатывать данный цитокин.

Распределение трансформирующего фактора роста ($TGF-\alpha$) оставалось преимущественно внутриклеточным, с отсутствием иммунореактивности в межклеточном пространстве. В здоровой коже отмечали умеренную окраску во всех слоях эпидермиса и дермы, с небольшим увеличением в области волосяных фолликулов. При сепсисе выявили усиление интенсивности окрашивания за счет миграции макрофагов (рис. 1).

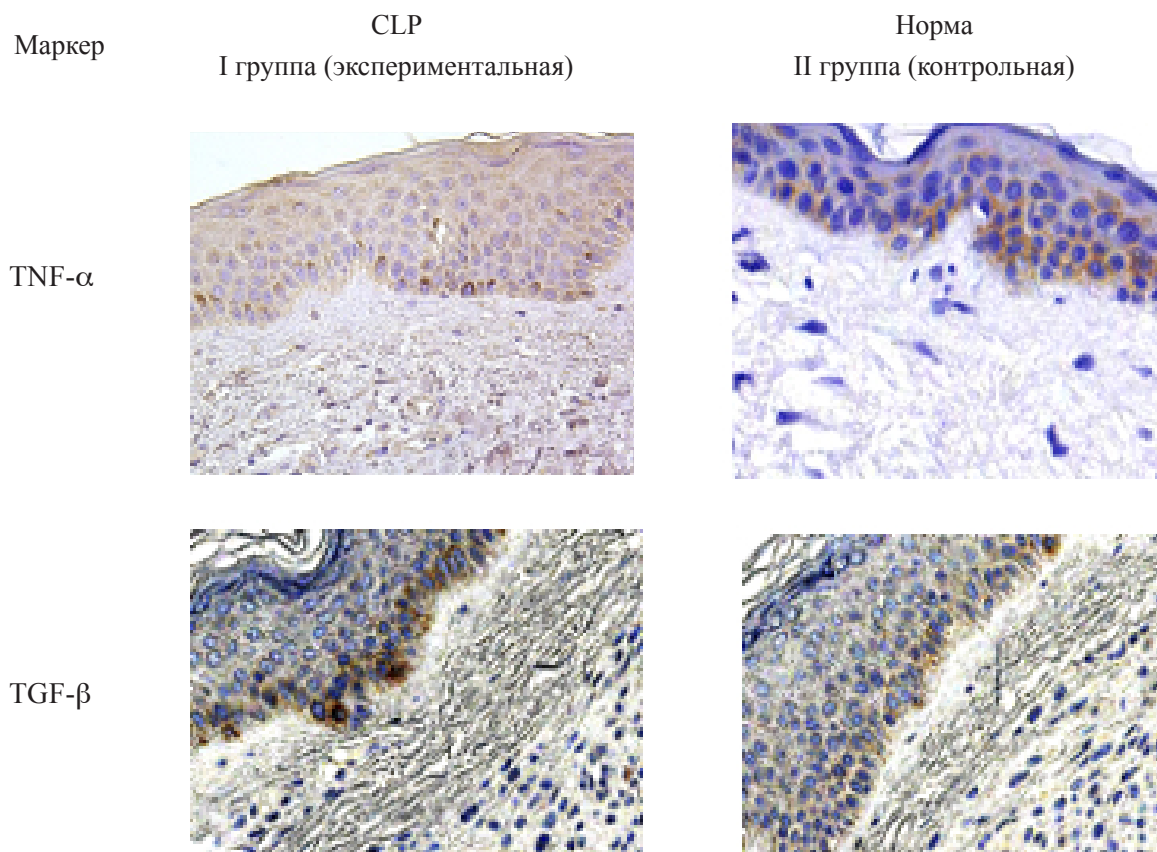
$TGF-\alpha$ является противовоспалительным цитокином, секретируемый многими клетками, в том числе макрофагами. Как известно, трансформирующий фактор роста ингибирует CD4 и CD8 Т-клетки и некоторые виды В-клеток, тем самым предотвращая аутоиммунную реакцию организма при воспалении [12]. Обнаруженное увеличение $TGF-\alpha$ более вероятно носит компенсаторный характер при появлении в очаге воспаления провоспалительных медиаторов, тем самым можно предположить, что индукция экспрессии $TGF-\alpha$ происходит в ответ на повы-

шенное количество провоспалительных медиаторов.

При сепсисе в эпидермисе животных было выявлено увеличение доли иммунопозитивных клеток (преимущественно клеток Лангерганса) с антителами к интерлейкинам по сравнению с контрольной группой: IL-10 – в 2,2 раза, IL-6 – в 4,5 раза, IL-12 – в 2,2 раза (рис. 1).

Принято считать, что IL-6 активирует Th-2-опосредованный иммунный ответ, в то время как IL-12 активирует дифференцировку в сторону Th-1 [13]. Но некоторыми исследователями было показано, что при увеличении количества $TGF-\alpha$, IL-6 и IL-12 может запускаться дифференцировка в сторону Th-17, приводящая к появлению активной формы воспаления, что ведёт в дальнейшем к развитию аутоиммунных процессов в организме [14]. IL-10 ингибирует реактивацию Т-клеток, что предотвращает массивные аутоиммунные изменения [15].

ИГХ-реакции при фенотипировании макрофагов также демонстрировали увеличение доли иммунопозитивных клеток при сепсисе по сравнению с контрольной группой: CD68 – в 2,5 раза, CD163 – в 1,8 раза, CD206 – в 1,9 раза. Распределение CD163 остается преимущественно внутридермальным, CD68 и CD206 визуализируются в дерме и эпидермисе (рис. 1).

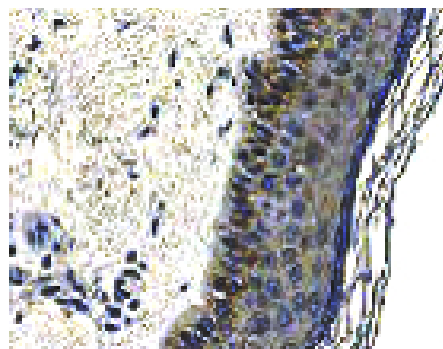
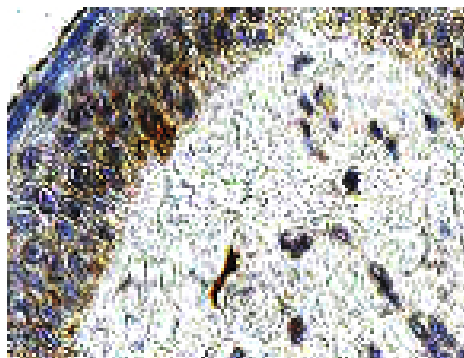


Маркер

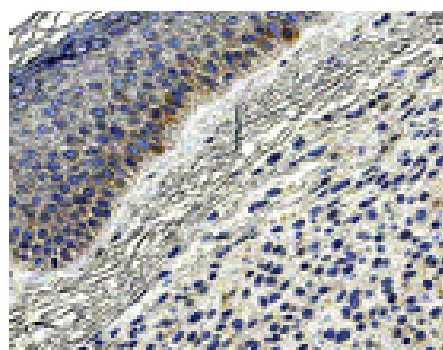
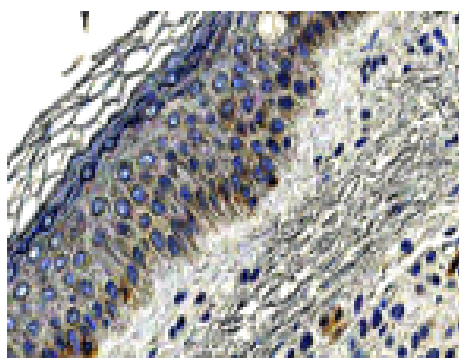
CLP
I группа (экспериментальная)

Норма
II группа (контрольная)

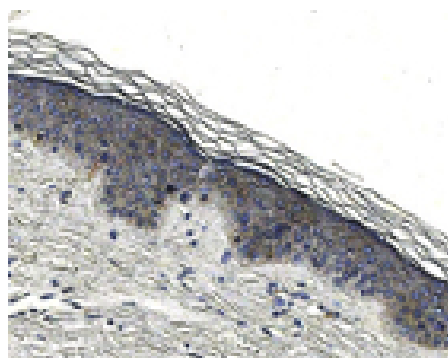
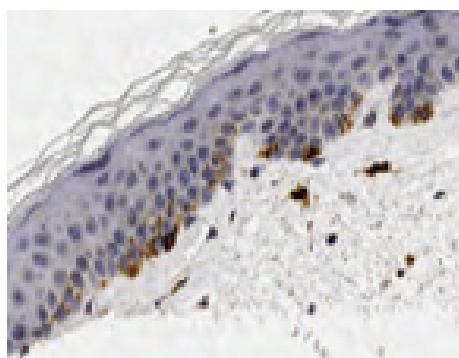
IL-12



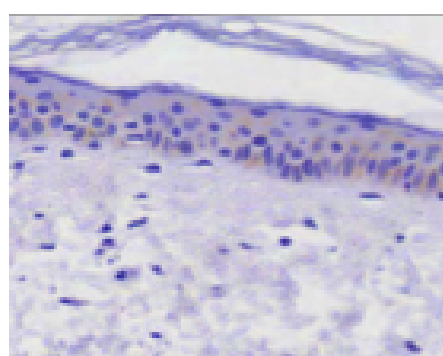
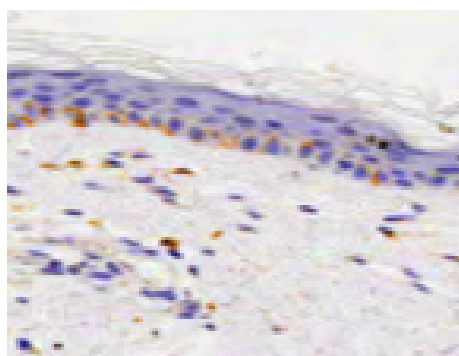
IL-10



IL-6



CD68



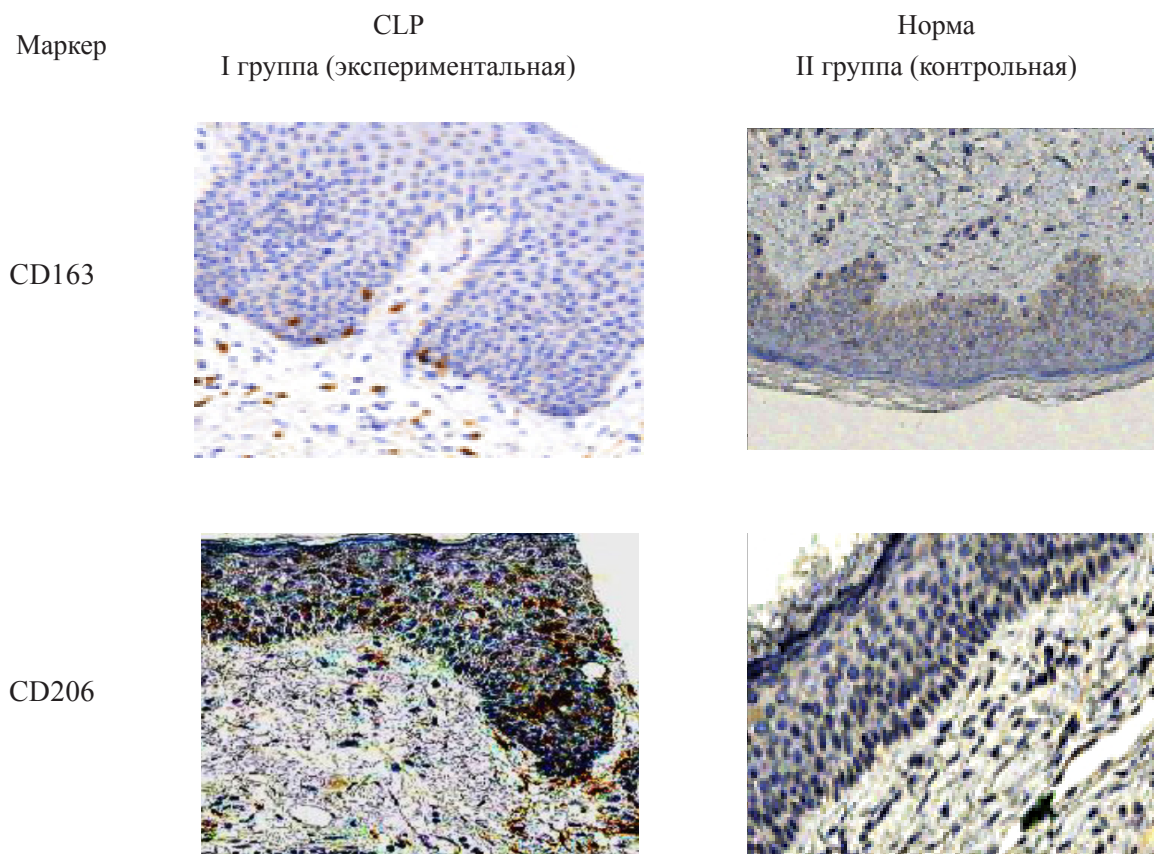


Рис. 1. Сравнительная характеристика кожи в условиях системного воспаления и в норме. Иммуногистохимические реакции, докрасивание – гематоксилином, увелич.х400.

Следует отметить, что необходимо продолжить изучение взаимодействия провоспалительных и противовоспалительных медиаторов в коже при сепсисе, чтобы расширить представление о молекулярных механизмах. Тем не менее, основываясь на результатах нашей работы, можно сделать предположение, что при сепсисе в коже увеличивается количество M1-макрофагов.

Дифференцировка макрофагов в сторону M1 фенотипа (превалирование CD68+ клеток и смещение цитокинового баланса в сторону провоспалительных цитокинов) приводит к запуску Th-1-иммунного ответа и гиперпродукции NO, лизосомальных ферментов и активных форм кислорода, что ведет к нарушению барьерной функции кожи [8].

В тоже время, изучение цитокинового равновесия в коже требует дальнейших исследований, так как увеличение количества IL-6, IL-12 и TNF- α может являться причиной развития дисфункции кожи [13; 16; 17].

Мы предполагаем, что более глубокие аутоиммунные деструктивные изменения кожи не выявляются в силу того, что при сепсисе гораздо быстрее происходят поражения других, в пер-

вую очередь, жизненно важных органов-мишеней, которые влекут за собой полиорганную недостаточность и приводят к летальному исходу.

Согласно полученных нами результатов, при сепсисе в коже происходит увеличение провоспалительных цитокинов, которое может оказывать отрицательное влияние на её защитные свойства и приводить к различным заболеваниям, как местного, так и системного характера [18]. Но, несмотря на существенное увеличение количества провоспалительных цитокинов, при анализе образцов кожи, полученных от животных с сепсисом, не были обнаружены морфофункциональные нарушения кожного покрова или признаки кожных заболеваний [10]. Такие результаты можно объяснить увеличением количества противовоспалительных цитокинов, которые нивелируют эффекты провоспалительных цитокинов [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение количества провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на фоне сепсиса свидетельствует о вовлечении эпидермиса в общий воспалительный процесс, за счет

смещения цитокинового равновесия в сторону преобладания провоспалительных медиаторов и M1-макрофагов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

1. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) | Critical Care Medicine. JAMA Network. <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2492881>. 21. 2020.
2. Venet F., Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat. Rev. Nephrol.* 2018;14(2). doi: 10.1038/nrneph.2017.165.
3. Terajima S., Higaki M., Igarashi Y., Nogita T., Kawashima M. An important role of tumor necrosis factor- α in the induction of adhesion molecules in psoriasis. *Arch. Dermatol. Res.* 1998;290; 5:246–252. doi:10.1007/s004030050299.
4. Mori H.-M., Kawanami H., Kawahata H., Aoki M. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016;16:144. doi:10.1186/s12906-016-1128-7.
5. Asadullah K., Sabat R., Friedrich M., Volk H. D., Sterry W. Interleukin-10: an important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* .2004;3;2:185–192. doi:10.2174/1568010043343886.
6. Toichi E. An Anti-IL-12p40 Antibody Down-Regulates Type 1 Cytokines, Chemokines, and IL-12/IL-23 in Psoriasis. *J. Immunol.* 2006;177(7);4917–4926. doi: 10.4049/jimmunol.177.7.4917.
7. Bertani F. R. Classification of M1/M2-polarized human macrophages by label-free hyperspectral reflectance confocal microscopy and multivariate analysis. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 8965. doi: 10.1038/s41598-017-08121-8.
8. Liu Y.-C., Zou X.-B., Chai Y.-F., Yao Y.-M. Macrophage Polarization in Inflammatory Diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2014;10(5):520–529. doi:10.7150/ijbs.8879.
9. Orecchioni M., Ghosheh Y., Pramod A. B., Ley K. Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. *Front. Immunol.* 2019; 10. doi:10.3389/fimmu.2019.01084.
10. Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators of Inflammation.* 2015; 18. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2015/816460>. 22.06. 2020.
11. Dejager L., Pinheiro I., Dejonckheere E., Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis?. *Trends Microbiol.* 2011;19(4):198–208. doi: 10.1016/j.tim.2011.01.001.
12. Sanjabi S., Zenewicz L. A., Kamanaka M., Flavell R. A. Anti- and Pro-inflammatory Roles of TGF- β , IL-10, and IL-22 In Immunity and Autoimmunity. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2009; 9(4): 447–453. doi: 10.1016/j.coph.2009.04.008.
13. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat)3 and Stat4. *J. Exp. Med.* 1995; 181(5): 1755–1762.
14. Tesmer L. A., Lundy S. K., Sarkar S., Fox D. A. Th17 cells in human disease. *Immunol. Rev.* 2008;223:87–113. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00628.x.
15. Girard-Madoux M. J. H., Kel J. M., Reizis B., Clausen B. E. IL-10 controls dendritic cell-induced T-cell reactivation in the skin to limit contact hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;129(1):143-150.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2011.08.032.
16. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014;6(10). doi:10.1101/cshperspect.a016295.
17. Terajima S., Higaki M., Igarashi Y., Nogita T., Kawashima M. An important role of tumor necrosis factor- α in the induction of adhesion molecules in psoriasis. *Arch. Dermatol. Res.* 1998;290(5):246–252. doi:10.1007/s004030050299.
18. Coondoo A. The Role of Cytokines in The Pathomechanism of Cutaneous Disorders. *Indian J. Dermatol.* 2012;57(2):90–96. doi:10.4103/0019-5154.94272.

УДК: 616.24:616-006(470.345)

DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-55-58

ТРУДНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРОНХИОЛОАЛЬВЕОЛЯРНОГО РАКА ЛЕГКИХ СРЕДИ БОЛЬНЫХ ФТИЗИАТРИЧЕСКОГО И ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Конкина В. В., Плотникова Н. А., Камалихин И. В.

ГБУЗ РМ «Республиканский онкологический диспансер», 430032, ул. Ульянова 30, Саранск, Республика Мордовия, Россия.

Для корреспонденции: Плотникова Надежда Алексеевна, д.м.н., профессор, врач-патологоанатом ГБУЗ РМ «Республиканский онкологический диспансер», e-mail: plona@mail.ru.

For correspondence: Plotnikova N. A., MD, Professor, Republican Oncological Dispensary, e-mail: plona@mail.ru.

Information about authors:

Konkina V. V., <https://orcid.org/0000-0003-1417-7950>

Plotnikova N. A., <https://orcid.org/0000-0002-3917-6199>

Kamalikhin I. V., <https://orcid.org/0000-0001-6641-6437>

РЕЗЮМЕ

В статье описывается клинический случай пациента, ухудшение состояния которого расценивалось в качестве проявления лекарственно-устойчивой формы специфического туберкулезного процесса, хотя все результаты исследований на микобактерии туберкулеза были отрицательные. Отсутствие онкологической настороженности и недостаточное использование морфологических методов диагностики не позволили прижизненно диагностировать бронхиолоальвеолярный рак лёгких у данного пациента.

Ключевые слова: клинический случай, бронхиолоальвеолярный рак, дифференциальная диагностика, морфология, туберкулёз, пневмония.

DIFFICULTIES OF DIAGNOSIS AND CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF BRONCHIOALVEOLAR PULMONARY CANCER AMONG PATIENTS WITH PHYSIATRIC AND PULMONOLOGICAL PROFILE

Konkina V. V., Plotnikova N. A., Kamalikhin I. V.

Republican Oncological Dispensary, Saransk, Republic of Mordovia, Russia

SUMMARY

This is a clinical case of a patient whose deterioration was regarded as a manifestation of a drug-resistant form of a specific tuberculosis process, although all the results of studies on Mycobacterium tuberculosis were negative. Due to the lack of oncological alertness and the insufficient use of morphological diagnostic methods, it was not possible to diagnose the bronchioloalveolar lung cancer in this patient during examination.

Key words: clinical case, bronchioloalveolar cancer, differential diagnosis, morphology, tuberculosis, pneumonia.

Рак лёгкого стоит на втором месте в дифференциально-диагностическом ряду заболеваний органов дыхания после воспалительных. При этом бронхиолоальвеолярный рак составляет 1-2% всех злокачественных новообразований легких, встречается одинаково часто у женщин и мужчин в возрасте от 25-70 лет. [1-5; 8; 10] Как правило, на рентгенограмме значительное разрастание опухоли в лёгочной ткани напоминает уплотненные участки, подобные пневмоническим очагам. [3] Диффузная форма бронхиолоальвеолярного рака макроскопически напоминает стадию серого опеченения крупозной пневмонии, множественные лёгочные метастазы рака щитовидной железы, а также некоторые формы туберкулёза [6; 7; 8; 9]. Всё перечисленное может быть причиной несвоевременного выявления и диагностических ошибок в прак-

тике врачей фтизиатрического и пульмонологического профиля. Учитывая вышесказанное, актуальным вопросом остается выявление клинико-морфологических особенностей рака легких у больных фтизиатрического и терапевтического профиля.

За март 2020 года по данным аутопсии нами было зафиксировано 4 случая бронхиолоальвеолярного рака. Все пациенты были госпитализированы с диагнозами: очаговая сливная пневмония с развитием парапневмонического плеврита, фиброзно-кавернозный туберкулёз в фазе инфильтрации и бронхогенного обсеменения, казеозная пневмония и двусторонняя тотальная пневмония. В связи с этим, мы представляем наиболее показательный случай бронхиолоальвеолярного рака легких, метастазирующего в головной мозг, с летальным исходом у паци-

ента, проходившего лечение по поводу казеозной пневмонии в ГКУЗ РМ «Республиканский противотуберкулезный диспансер» г. Саранска.

Пациент поступил в ГКУЗ РМ «Республиканский противотуберкулезный диспансер» г. Саранска с подозрением на туберкулез 04.03.2020 г., с жалобами на общую слабость, боли в правой половине грудной клетки, одышку при незначительной физической нагрузке, кашель с мокротой гнойного характера, похудание до 10 кг. Считал себя больным в течение 3 дней. Туберкулёзом ранее не болел, контакт отрицал. Флюорографию проходил ежегодно. Изменения в лёгких были выявлены впервые в 2016г. (расценивались как ограниченный фиброз верхней доли правого лёгкого). Из анамнеза жизни: в августе 2018г. перенёс инсульт. При R-контроле также была патология в верхней доле правого лёгкого. На дообследование не являлся, злоупотреблял алкоголем. Отмечал ухудшение самочувствия с 23.02.2020 г., что связывал с переохлаждением. С подозрением на туберкулёз легких был переведен в РПТД. При поступлении общее состояние средней степени тяжести, сознание на уровне ступора.

КТ головного мозга от 14.03.2020 г.: КТ-картина может соответствовать метастазам в теменную долю справа и затылочную долю слева. Дифференцировать с ОНМК.

Мультиспиральная рентгеновская компьютерная томография от 13.03.2020 г.: КТ картина полисегментарной двусторонней абсцедирующей пневмонии, осложненной правосторонним экссудативным плевритом. Дифференцировать с: инфильтративным туберкулёзом правого легкого, фаза распада и обсеменения? с заболеванием правого легкого с распадом? полилимфоаденопатия средостения? (метастаз?). Асцит. Перелом грудины и 4 ребра. Отрицательная динамика появилась 04.03.2020 г. в виде увеличения инфильтрации и появления жидкости в правой плевральной полости и брюшной полости.

Реакция Манту от 05.03.2020 г.: отрицательно.

На основании жалоб, данных объективного обследования и дополнительных лабораторно-инструментальных методов исследования был выставлен заключительный клинический диагноз:

Основное заболевание: Казеозная пневмония правого легкого.

Осложнения основного заболевания: Ишемический инфаркт головного мозга. Двухсторонняя бактериальная пневмония.

Сопутствующие заболевания: Последствия ОНМК (от 2018г.).

С 13.03.2020 г. состояние пациента резко ухудшалось в виде усиления одышки в покое, ухудшения зрения, появления выраженной об-

щей слабости. С 16.03.2020 г. больной впал в сопор, 19.03.2020 г. констатирована смерть.

На вскрытии правое лёгкое на ощупь уплотнено в области верхней и части нижней доли. На разрезе в верхней доле ткань лёгких сероватого цвета с полостями распада, в области нижней доли обнаружен обширный геморрагический инфаркт. Остальная часть лёгкого серовато-красного цвета. Левое лёгкое диффузно уплотнено, на разрезе серо-красного цвета. С поверхности разрезов стекает большое количество гноевидной жидкости. В сером веществе головного мозга на разрезе были выявлены очаги ишемического размягчения: в области подкорковых ядер слева размерами 2,0 x 1,0 см., в затылочной доле слева – 3,0 x 2,5 см., в теменной доле справа – 1,0 x 1,5 см, в затылочной справа – 3,0 x 3,5 см.

Микроскопически: при патогистологическом исследовании легочной ткани в очаге поражения в просвете альвеол по ходу межальвеолярных перегородок наблюдается разрастание цилиндрических полиморфных атипичных опухолевых клеток с базально расположенными гиперхромными ядрами, с формированием папиллярных структур (рис. 1). Опухолевые клетки отличаются признаками выраженного клеточного атипизма с наличием митозов. В части железистых структур клетки новообразования выстраиваются в несколько рядов, что характеризует достаточно высокую пролиферативную активность опухолевой ткани. Распространение опухоли наблюдается преимущественно в участках пневмосклероза (рис. 2). Данных за туберкулёзный процесс и бактериальную пневмонию не выявлено. В ткани головного мозга наблюдаются явления перипеллюлярного и периваскулярного отека с очагами ишемических инфарктов. В зоне одного из очагов обнаружен метастаз бронхиолоальвеолярного рака (рис. 3).

На основании вышеописанного был выставлен патологоанатомический диагноз:

Основное заболевание: Бронхиолоальвеолярный рак лёгких, диссеминированная форма $T_4N_0M_1$, IV стадия с метастазами в головной мозг.

Осложнения: Абактериальный тромбоэндокардит с поражением митрального и аортального клапанов. Множественные ишемические инфаркты (в области подкорковых ядер слева, в затылочной доле слева, в теменной доле справа, затылочной доле справа) в головном мозге, почках, селезенке. В данном случае имело место полное расхождение заключительного клинического и патологоанатомического диагнозов по основному заболеванию и осложнениям.

Окончательный диагноз был установлен после аутопсии. Морфологически очаг поражения

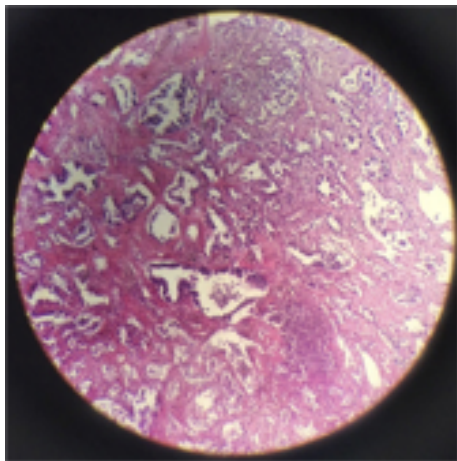


Рис. 1

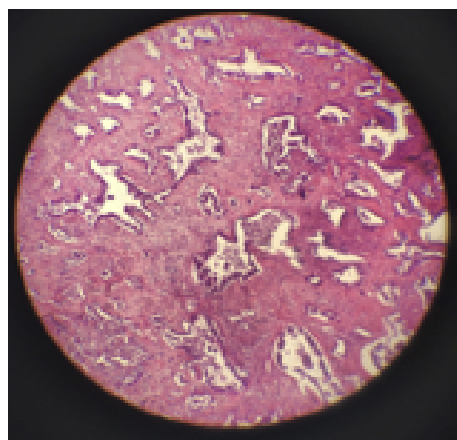


Рис. 2

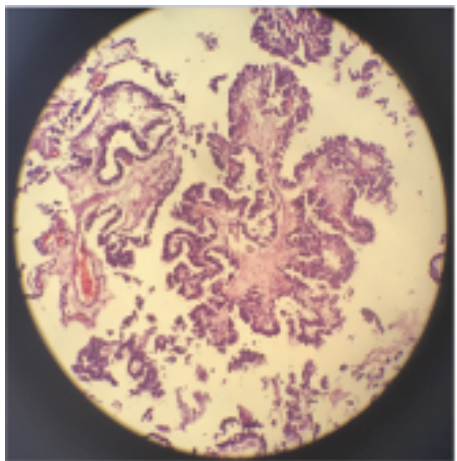


Рис. 3

левого легкого имел плотную консистенцию, серо-красного цвета, с поверхности разреза стекла гноевидная жидкость. Подобная патоморфологическая картина клинически может сопровождаться симптомами пневмонии, туберкулеза и ряда других заболеваний и патологических процессов в легочной ткани. При микроскопиче-

ском исследовании, преимущественно в очагах пневмофиброза, диагностирован бронхиолоальвеолярный рак легких с метастазами в головной мозг. Прижизненное бронхоскопическое исследование, возможно, способствовало бы своевременной диагностике патологического процесса.

Таким образом, в клинической практике нередко возникает сложность дифференциальной диагностики рака, пневмоний и туберкулеза легких. Приведенный клинический случай демонстрирует, что ухудшение самочувствия больного расценивалось как проявление лекарственно-устойчивой формы специфического туберкулезного процесса, хотя все результаты исследований на микобактерии туберкулеза были отрицательные. Отсутствие онкологической настороженности и недостаточное использование морфологических методов диагностики не позволили прижизненно диагностировать бронхиолоальвеолярный рак лёгких у пациента.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека: Руководство в 2 томах. Т.1 / Под ред. Н. А. Краевского, А. В. Смольяникова, Д. С. Саркисова. – 4-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина; 1993.
2. Клинические рекомендации Ассоциации онкологов России по диагностике и лечению рака лёгкого; 2018.
3. Атлас патологии Робинсона и Котрана [Текст] /Э.К. Клатт; пер. с англ.; под ред. О.Д. Мишнева, А. И. Щеголева. М.: Логосфера; 2010.
4. Jemar A., Siegal R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M. Cancer Statistics. CA Cancer J. clin. 2009;275-249.
5. Word cancer repost 2008 / Ed. by P. Boyle, B. Levin-WHO, Lyon, IARC; 2008.
6. Черняев А.Л., Самсонова М.В.. Патологическая анатомия легких: Атлас / Под ред. Чучалина А.Г. М.: Издательство, Атмосфера; 2004.
7. Коган Е. А., Кригликов Г. Г., Пауков В. С., Соколина И. А., Целуйко С. С. Патология органов дыхания/ под ред. акад. РАЕН, проф. В. С. Паукова. М.: Литера; 2013.
8. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность)/ под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г.В. Петровой – М.: МНИОН им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2019.
9. Григорук О. Г., Пупкова Е. Э., Базулина Л. М., Лазарев А. Ф. Использование цитологиче-

ского материала при диагностике рака легкого. Злокачественные опухоли. 2017;7(4):13-20.

10. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN2012. *Int J Cancer*. 2015; 136(5): 359-86.

REFERENCES

1. Pathological diagnostics of human tumors: A guide in 2 volumes. Vol.1 / Ed. N.A. Kraevsky, A.V. Smolyannikov, D.S. Sarkisova.-4th ed., Revised. And additional - M.: Medicine; 1993.

2. Clinical guidelines of the Association of Oncologists of Russia for the diagnosis and treatment of lung cancer; 2018.

3. Atlas of pathology of Robinson and Cotran [Text] / EK. Clatt; lane from English; ed. O.D. Mishnev, A.I. Shchegoleva. M.: Logosfera; 2010.

4. Jemar A., Siegal R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M. Cancer Statistics. *CA Cancer J. clin*. 2009:275-249.

5. World cancer report 2008 / Ed.by P. Boyle, B. Levin-WHO, Lyon, IARC; 2008.

6. Chernyaev AL, Samsonova MV. Pathological anatomy of the lungs: Atlas / Ed. Chuchalina A.G. - M.: Publishing house, Atmosphere; 2004.

7. Kogan EA, Kriglikov GG, Paukov VS, Sokolina IA, Tseluiko SS .. Pathology of the respiratory system / ed. acad. RANS, prof. V.S. Paukova. M.: Litter; 2013.

8. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality) / ed. HELL. Kaprina, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. M.: MNION im. P.A. Herzen - branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITs Radiology» of the Ministry of Health of Russia; 2019.

9. Grigoruk O. G., Pupkova E. E., Bazulina L. M., Lazarev A. F. The use of cytological material in the diagnosis of lung cancer. *Malignant tumors*. 2017;7(4):13-20.

10. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN2012. *Int J Cancer*. 2015; 136(5):359-86.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОГО НЕОАНГИОГЕНЕЗА

Крамарь Т. В.

Центральная научно-исследовательская лаборатория, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Крамарь Татьяна Вадимовна, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии имени С. И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: kramarva@gmail.com

For correspondence: Tatiana V. Kramar, Junior Researcher, Central Research Laboratory Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: kramarva@gmail.com

Information about authors:

Kramar T. V., <https://orcid.org/0000-0003-2632-0451>

РЕЗЮМЕ

Ангиогенез является генетически определенным механизмом образования новых сосудов из клеток-предшественников, представляет собой комплексный процесс формирования новых сосудов, регулируемый дисбалансом соотношения про- и антиангиогенных факторов. Выделяют физиологический и патологический ангиогенез, к которому уже непосредственно относят ангиогенез в условиях опухолевой патологии, и в условиях воспалительных заболеваний. Так, принципиальные различия в механизмах заключаются в непосредственном синтезе сосудистых факторов роста в опухолевых клетках, или выделение проангиогенных факторов иммунными и клетками стромы. В условиях воспаления цитокины могут непосредственно вызывать синтез сосудов путем вовлечения ангиобластов, или, косвенно, путем индукции лейкоцитов и эндотелиальных клеток для синтеза проангиогенных медиаторов.

Ключевые слова: ангиогенез, воспаление, гипоксия, опухоль, HIFa, VEGF-A.

PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF INFLAMMATORY AND NON-INFLAMMATORY NEOANGIOGENESIS.

Kramar T. V.

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

Angiogenesis is a genetically determined mechanism for the formation of new vessels from progenitor cells; it is also a complex process of new vessels formation, that is regulated by an imbalance in the pro- and anti-angiogenic factors ratio. Angiogenesis is divided on physiological and pathological, which directly refers to angiogenesis in conditions of tumor pathology, and in conditions of inflammatory diseases. So the fundamental differences in the mechanisms base in the direct synthesis of vascular growth factors in tumor cells, or the release of pro-angiogenic factors by immune and stromal cells. Under conditions of inflammation, cytokines can directly induce vascular synthesis by recruiting angioblasts, or, indirectly, by inducing leukocytes and endothelial cells for the synthesis of pro-angiogenic mediators.

Key words: angiogenesis, inflammation, hypoxia, tumor, HIFa, VEGF-A.

Ангиогенез представляет собой комплексный процесс формирования новых сосудов, регулируемый определенными, генетически детерминированными механизмами. Базовый принцип неоваскуляризации заключается в увеличении сосудистой плотности и, как следствие, тканевой перфузии, что приводит к увеличению доставки питательных веществ и утилизации метаболитов [1]. Выделяют физиологический ангиогенез и патологический, который включает в себя ангиогенез при неопластических процессах, а также воспалительный и невоспалительный ангиогенез, в зависимости от основного этиопатогенетического стимула. Невоспалительный ангиогенез

представляет собой механизм образования молодых кровеносных сосудов из зрелых дифференцированных в ответ на синтез проангиогенных факторов неиммунными клетками [2]. В качестве матричной клетки для формирования сосудов выступает ангиобласт – клетка эндотелиального происхождения. Физиологическая невоспалительная неоваскуляризация – жестко регулируемый процесс, который лежит в основе преимущественно эмбриогенеза. В качестве примера физиологического воспалительного ангиогенеза является новообразование сосудистой сети при заживлении ран и овуляции. Исходом физиологического ангиогенеза является формирование

функционально активной сосудистой сети с последующей модификацией в более эффективный перфузионный контур, который соответствует метаболическим потребностям тканей [3].

Патологический ангиогенез является следствием нарушения баланса между синтезом про- и антиангиогенных факторов и протекает неконтролируемым образом и приводит к аномальному сосудистому паттерну, что наблюдается в структуре сердечно-сосудистых заболеваний, ревматологических, офтальмологических, гинекологических заболеваний, а также онкопатологии. Кроме того, патологическая неоваскуляризация ведет к атерогенезу в связи с увеличением макрофагальной инфильтрации и последующим ремоделированием сосудистой стенки по пути фиброобразования [4].

К «классическим» специфическим проангиогенным факторам и цитокинам относятся: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), факторы роста фибробластов (FGFs), плацентарный фактор роста (PGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), трансформирующий фактор роста-бета (TGF- β), ангиопоэтины (Angs), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста гепатоцитов/фактор рассеяния (HGF/SF), интерлейкин 8 (IL-8) и эритропоэтин (EPO). Также выделяют «неклассические» факторы роста, к которым отнесены различные эндогенные пептиды: эритропоэтин (Epo), гранулоцит-колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкины, ангиотензин II (Ang II), эндотелины (ETs), адреномедуллин (AM), проадреномедуллин N-терминальный 20-пептид (PAMP), уротензин-II (U-II), лептин, адипонектин, резистин, нейропептид-Y, вазоактивный кишечный пептид (VIP), гипофизарный активирующий аденилатциклазу полипептид (PACAP) и вещество P [5].

Формирование сосудов представляет собой последовательный стадийный процесс и включает в себя несколько этапов. После активации эндотелиальных клеток проангиогенными стимулами происходит синтез протеолитических ферментов, что приводит к деструкции периваскулярного внеклеточного матрикса и базальной сосудистой мембраны. Эндотелиоциты мигрируют в периваскулярную область, где формируют первичные ответвления от основного сосуда. Последующее формирование просвета в этих первичных отростках приводит к образованию капиллярных петель, где в последующем происходит синтез базальной мембраны и созревание кровеносных сосудов до полноценных трубчатых структур, аналогичных матричному сосуду [6].

Опухолевый ангиогенез

Несмотря на то, что кровеносные сосуды генерируют инструктивные сигналы для органогенеза и играют ключевую роль в росте и регенерации тканей, они также могут стимулировать развитие злокачественных образований различной природы.

Описан феномен ангиогенного переключения, что представляет собой процесс, который указывает на развитие опухоли от бессосудистой до васкуляризованной стадии через пусковой механизм неангиогенеза. Данный механизм обуславливает непосредственно рост опухолей. Наиболее значимым ангиогенным фактором является гипоксия индуцирующий фактор HIF, который может стимулировать экспрессию большого количества фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), рецепторов к VEGF FLT-1 и FLK-1, тромбоцитарный фактор роста B (PDGF-B), ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), рецептор TIE-2, матриксные металлопротеиназы (MMP-2 и MMP-9) и ангиопоэтины (ANG-1 и ANG -2) [7].

В настоящее время рассматривается несколько ключевых причин опухолевого ангиогенеза: непосредственный синтез сосудистых факторов роста в опухолевых клетках, который реализуется в результате генетических мутаций; а также выделение проангиогенных факторов иммунными и стромальными клетками, инфильтрирующими опухоль; изменение метаболизма опухолевого микроокружения и, как следствие, повышенный синтез сосудистых факторов роста; а также нарастающая гипоксия и метаболические изменения внутри существующих сосудов вследствие развития метаболического ацидоза и нарушения утилизации продуктов клеточного обмена. Кроме вышеописанных причин, роль проангиогенных факторов отводят раковым стволовым клеткам – основным клеткам ответственным за прогрессию, инвазию и метастазирование опухолевого процесса [8].

Также помимо формирования строительных сосудистых блоков и доставки питательных веществ и кислорода опухолевые эндотелиальные клетки способны рекрутировать проангиогенные клетки из красного костного мозга.

Отсюда следует, что исходя из патогенетического пути опухолевого роста и его тесной связи с синтезом проангиогенных факторов, ангиогенез активно исследуется как лекарственная мишень для терапии онкогенеза.

Обсуждается, что мишенями основных групп химиотерапевтических препаратов являются сформированные и дифференцированные онкоклетки, в то время как раковые стволовые клетки являются резистентными к такой терапии.

При условии, что клетки данной группы синтезируют большее количество VEGF, одним из основных видов терапии является блокирование рецепторов к VEGF, а также непосредственное связывание лекарственного препарата с активным центром VEGF [9].

Также одной из ключевых проблем в химиотерапевтическом лечении опухолей различного генеза является низкая биодоступность существующих препаратов вследствие неадекватного формирования сосудов, а также их функциональной неполноценности. Кроме того неадекватный ангиогенез является потенциальным фактором ремоделирования и органических поражений органов, в которых происходит непосредственное формирование опухолевого процесса.

Ангиогенез и воспаление

Воспаление представляет собой типовой защитный механизм, позволяющий организму реагировать на экзогенные и эндогенные повреждения и патогенные воздействия. Воспаление подразделяется на острое и хроническое. Острое воспаление обеспечивает немедленный иммунный ответ на инфекционные агенты с помощью так называемого механизма «поиск и уничтожение» и включает быстрое вовлечение и активацию нейтрофильных лейкоцитов, эозинофилов и натуральных киллеров. Основным механизмом, используемым иммунными клетками против патогенов, является генерация активных форм кислорода с последующей инфильтрацией лейкоцитов для фагоцитоза оставшихся фрагментов. В отличие от этого защитного механизма, хроническое воспаление вызывает существенное повреждение и ремоделирование тканей, которое может создавать благоприятные условия для канцерогенеза [10]. В этой ситуации патологический ангиогенез играет одну из ключевых ролей и способствует постоянному поддержанию активности воспалительных клеток, тем самым обостряя тканевое повреждение и воспаление, в частности. Ряд воспалительных клеток, включая нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки, НК-клетки, макрофаги и дендритные клетки (ДК), участвуют в индукции и стимуляции ангиогенеза, в то время как альтернативно активированные макрофаги, играют одну из решающих ролей в опухолевом ангиогенезе. В условиях гипоксии воспалительные клетки выделяют множество проангиогенных факторов, включая VEGF, фактор некроза опухоли- α (TNF- α) и другие цитокины, что приводит к увеличению проницаемости сосудов и способствует дополнительному привлечению иммунных клеток [11]. Высокая клеточная численность лейкоцитов и макрофагов также способствует протеолитическому ремоделированию внеклеточного матрикса, высвобождая

матричные металлопротеиназы, катепсины, плазминоген и урокиназу, тем самым обеспечивая образование кровеносных сосудов. Ангиогенез косвенно усиливается хемокинами, такими как CXCL12, CXCL8 и CXCL1, которые преимущественно синтезируются в нейтрофилах, что также дополнительно усиливает воспаление. Однако одной из основных функций активированных воспалительных клеток является генерация активных форм кислорода, что служит важным стимулом передачи ангиогенных сигналов [12].

В месте воспаления иммунные клетки могут продуцировать ангиогенные цитокины, факторы роста и протеазы, которые способствуют образованию новых сосудов. Неоваскуляризация и воспаление имеют ряд общих медиаторов, а также единые сигнальные пути, такие как путь ЦОГ/простагландин. Простаноиды, вырабатываемые ЦОГ-2, могут индуцировать экспрессию VEGF и других проангиогенных факторов. Соответственно, ингибирование ЦОГ снижает выработку VEGF и неоваскуляризацию тканей. Провоспалительные цитокины могут непосредственно вызывать образование сосудов посредством вовлечения целевых эндотелиоцитов, или, косвенно, путем индукции лейкоцитов и эндотелиальных клеток для синтеза проангиогенных медиаторов. VEGF способствует патологическому ангиогенезу и повышению проницаемости сосудов. Кроме того, он также вовлечен в усиление воспалительных процессов путем индукции других провоспалительных цитокинов [13].

Гипоксия

Тканевая гипоксия представляет собой процесс, характеризующийся снижением физиологического уровня кислорода, что приводит к дисбалансу между количественным соотношением проангиогенных и ангиостатических факторов и как следствие – усиленному неупорядоченному формированию молодых сосудов капиллярного русла.

Основными стимулами, способствующими образованию кровеносных сосудов при гипоксии, являются транскрипционные факторы HIF-1 α и HIF-2 α . Так, непосредственно факторы, индуцируемые гипоксией альфа, регулируют синтез сосудистого фактора роста VEGF, а также других проангиогенных факторов, таких как VEGF-R2 (Flk-1) и представителей семейств FGF и PDGF, и участвуют в рекрутировании клеток-предшественников эндотелия из депо, индуцируют их дифференцировку в эндотелиоциты. Все вышеизложенное способствует формированию незрелой, функционально неполноценной сосудистой сети [14].

Установлено, что гипоксия влияет на все этапы формирования сосудов, так, например,

HIF- α стимулируют экспрессию внеклеточных ферментов таких, как матриксные металло-протеиназы, что приводит к ремоделированию соединительной ткани и прорастанию сосудов. Влияние на созревание сосудов гипоксии и HIF- α , в частности, заключается в индукции синтеза Ang-1, PDGF и TGF- β , что приводит к активации поддерживающих клеток: миоцитов и перицитов, и формированию зрелых и стабильных кровеносных сосудов.

Другие проангиогенные факторы (соотношение ангиопоэтин-2/ангиопоэтин-1, Tie2, PDGF, основной фактор роста фибробластов (bFGF) и белок хемоаттрактанта моноцитов-1 (MCP-1)) играют ключевую роль не только в прорастании эндотелия, дифференцировке и ремоделировании сосудов, а также способствуют повышению сосудистой проницаемости и образованию просвета в молодых сосудах. Сопутствующим процессом гипоксии всегда выступает воспаление, так, ангиогенез обуславливается секрецией проангиогенных факторов, интерлейкинов, TGF- β 1 и MCP-1 в частности, а также протеиназ, иммунными клетками. В том числе, макрофаги M1 и M2 дифференциально экспрессируют HIF1 α и HIF2 α , а также индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS) и аргиназу 1 (ARG1) [15].

Отдельно рассматривается влияние гипоксии на ангиогенез в условиях злокачественных новообразований. Неоваскулогенез поддерживает кровоток в растущей опухолевой ткани, которая быстро расширяется, обеспечивая питательные вещества и кислород для процветающих раковых клеток; однако, чем больше клеток, тем больше потребность в организме, что вызывает еще большую гипоксию. Опять же, гипоксия, в свою очередь, стимулирует ангиогенез, улучшая гипоксическое состояние, закрывая порочный круг. Как следствие, опухолевая ткань оказывается высоко гипоксичной с избыточной, но дисфункциональной извитой сосудистой сетью, которая неэффективно восстанавливает кровоснабжение. Эта незрелая сосудистая структура дополнительно способствует изменениям доставки кислорода, усугубляя тем самым гипоксический фенотип опухолей [16].

Кроме того, в условиях гипоксии клетки подвергаются агрессивному воздействию, при этом наиболее злокачественные и низкодифференцированные клетки выживают в этих неблагоприятных условиях и стимулируют прогрессию опухоли. Недостаток кислорода приводит к утечке электронов и образованию активных форм кислорода, которые впоследствии окисляют белки и вызывают повреждение ДНК. В результате гипоксические клетки испытывают нестабильность генома, что может способствовать накоплению

онкогенных факторов, которые затем ускоряют развитие злокачественных новообразований.

С прикладной терапевтической точки зрения дисфункциональная избыточная сосудистая сеть ограничивает эффективность лекарственных препаратов с помощью различных механизмов, таких как недостаточное распределение биомолекул или снижение терапевтической цитотоксичности из-за низкого уровня кислорода и развития метаболического ацидоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ангиогенез представляет собой строго регулируемый процесс, который опосредован влиянием микроокружения и регулируется нарушением соотношения про- и антиангиогенных факторов. Одним из основных факторов, определяющих формирование молодых сосудов в условиях как воспаления, так и онкогенеза, является гипоксия и гипоксия индуцирующий фактор (HIFa), в частности. В условиях воспаления иммунные клетки выступают индукторами синтеза медиаторов воспаления, что, с одной стороны, способствует синтезу VEGF, а с другой непосредственно влияют на проницаемость сосудов и, как следствие, еще большему привлечению иммунных клеток в очаг повреждения. В то время как в условиях онкогенеза основным механизмом является интеракция между опухолевыми клетками и активированными макрофагами, что способствует совместному повышенному синтезу VEGF и прогрессии опухоли из бессосудистой стадии в васкуляризованную.

Так, понимание сложных патофизиологических путей ангиогенеза является отправной точкой в диагностике и разработке новых таргетных методов лечения.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания № FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

Acknowledgments. This work was financially supported by state task No FZEG-2020-0060 of the Russian Ministry of Science in the field of scientific research on the topic «Algorithms for molecular genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches to their targeted therapy using cellular and genetic technologies.»

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rizzi A., Benagiano V., Ribatti D. Angiogenesis versus arteriogenesis. Rom J Morphol Embryol. 2017;58(1):15-19.

2. Bocca C., Novo E., Miglietta A., Parola M. Angiogenesis and Fibrogenesis in Chronic Liver Diseases. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015;1(5):477-488. doi: 10.1016/j.jcmgh.2015.06.011.
3. Li T., Kang G., Wang T., Huang H. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Oncol Lett*. 2018;16(1):687-702. doi: 10.3892/ol.2018.8733.
4. Sarkar C., Goswami S., Basu S., Chakroborty D. Angiogenesis Inhibition in Prostate Cancer: An Update. *Cancers*. 2020;12(9):2382.
5. Kim Y.W., Byzova T.V. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood*. 2014;123(5):625-31. doi: 10.1182/blood-2013-09-512749.
6. Mizukami Y., Kohgo Y., Chung D.C. Hypoxia inducible factor-1 independent pathways in tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res*. 2007 ;13(19):5670-4. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0111.
7. Rankin E. B., Nam J. M., Giaccia A. J. Hypoxia: Signaling the Metastatic Cascade. *Trends Cancer*. 2016;2(6):295-304. doi:10.1016/j.trecan.2016.05.006.
8. Masoud G. N., Li W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(5):378-89. doi:10.1016/j.apsb.2015.05.007.
9. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*. 2005;69 Suppl 3:4-10. doi:10.1159/000088478.
10. Chen L., Endler A., Shibasaki F. Hypoxia and angiogenesis: regulation of hypoxia-inducible factors via novel binding factors. *Exp Mol Med*. 2009;41(12):849-57. doi: 10.3858/emmm.2009.41.12.103.
11. Elinor Hortle, Stefan H Oehlers. Host-directed therapies targeting the tuberculosis granuloma stroma. *Pathogens and Disease*, 2020 78 (2), ftaa015, doi: 10.1093/femspd/ftaa015
12. Pałgan K., Bartuzi Z. Angiogenesis in bronchial asthma. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. September 2015:415-420. doi:10.1177/0394632015580907
13. Golubinskaya E. P., Filonenko T. G., Kramar T. V., Yermola Y. A., Kubyshkin A.V., Gerashenko A. V., Kalfa M. A. & Shramko, I.I. Dysregulation of VEGF-dependent angiogenesis in cavernous lung tuberculosis. *Pathophysiology*. 2019;26(3-4):381-387.
14. Bowler E., Oltean S. Alternative Splicing in Angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2067. doi: 10.3390/ijms20092067.
15. Riabov V., Gudima A., Wang N., Mickley A., Orekhov A., Kzhyshkowska J. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *Front Physiol*. 2014;5:75. doi:10.3389/fphys.2014.00075
16. Zhang Y., Liu N. M., Wang Y., Youn J.Y., Cai H. Endothelial cell calpain as a critical modulator of angiogenesis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017;1863(6):1326-1335. doi: 10.1016/j.bbdis.2017.03.021.

ОКОЛОРОТОВОЙ (ЮКСТАОРАЛЬНЫЙ) ОРГАН Й. ХИВИЦА - НЕРАСКРЫТАЯ ТАЙНА АНАТОМИИ XXI ВЕКА

Николенко В. Н.^{1,2}, Чаиркин И. Н.¹, Чаиркина Н. В.¹, Кочурова Е. В.¹, Суслов А. В.¹,

Симандуев М. Я.¹, Вадюхин М. А.¹, Касаева Н. А.¹, Смолеевский А. Г.¹, Шешенева И. И.¹

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119434, ул. Трубецкая, д. 8, Москва, Россия.

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Для корреспонденции: Николенко Владимир Николаевич, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

For correspondence: Vladimir Nikolayevich Nikolenko, MD., Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Head of the Department of Human Anatomy and Regional Anatomy, Lomonosov Moscow State University, e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru

Information about authors:

Nikolenko V. N., <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

Chairkin I. N., <https://orcid.org/0000-0003-1235-9910>

Chairkina N. V., <https://orcid.org/0000-0003-2909-623X>

Kochurova E. V., <https://orcid.org/0000-0002-6033-3427>

Suslov A. V., <https://orcid.org/0000-0003-0613-8556>

Simanduev M. Y., <https://orcid.org/0000-0002-3760-2692>

Vadyukhin M. A., <https://orcid.org/0000-0002-6235-1020>

Kasaeva N. A., <https://orcid.org/0000-0002-4622-4179>

Smoleevskiy A. G., <https://orcid.org/0000-0002-8771-8589>

Shesheneva I. I., <https://orcid.org/0000-0003-1608-0917>

РЕЗЮМЕ

В статье представлен имеющийся на сегодняшний день обзорный материал о морфологии, функции и местоположении юкстаорального (околоротового) органа Хивица (ЮОО). Приводится анализ результатов ряда исследований, который позволяет утверждать, что юкстаоральный орган не является рудиментарным образованием, его можно считать нормальной анатомической структурой, выявляемой как у взрослого человека, так и плодов. Расположение органа типично возле протока околоушной железы в глубине тканей щеки медиальнее и выше угла нижней челюсти.

Наличие эпителиальных клеточных гнезд с железистой или плоскоклеточной дифференцировкой в юкстаоральном органе указывает на его эпителиальную природу. Однако, иммуногистохимическое исследование с положительной экспрессией белка S-100, нейронспецифической енолазы, молекул адгезии нервных клеток и рецепторов фактора роста нервов позволяет исследователям думать о нервном происхождении органа. Неоднозначны также размышления ученых в отношении функции юкстаорального органа. Приводятся данные в пользу как механорецепторной, так и секреторной функций органа Хивица. Обнаружение телец Пачини в юкстаоральном органе дает возможность предположить, что орган может выполнять хемосенсорную и баросенсорную функции.

Высокая ферментативная активность паренхиматозных клеток ЮОО на примере активности щелочной фосфатазы в секрете органа, столь не характерная для слюнных желез, позволяет предполагать, что ЮОО может являться железой внутренней секреции и может выполнять нейроэндокринную функцию.

Представлена информация о том, что поскольку ЮОО глубоко погружен в мягкие ткани, он может имитировать одонтогенные опухоли или периневральную инвазию карциномы.

Ключевые слова: околоротовой орган, юкстаоральный орган, железа Хивица, анатомия, функция, доброкачественная опухоль, ротовая полость.

THE PERIORAL (JUXTAORAL) OF J. CHIVITZ ORGAN - THE UNSOLVED MYSTERY OF THE ANATOMY OF THE XXI CENTURY

Nikolenko V. N.^{1,2}, Chairkin I. N.¹, Chairkina N. V.¹, Kochurova E. V.¹, Suslov A. V.¹,
Simanduev M. Y.¹, Vadyukhin M. A.¹, Kasaeva N. A.¹, Smoleevskiy A. G.¹, Shesheneva I. I.¹

¹First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

SUMMARY

The article presents the currently available survey material on the morphology, function and location of Chivitz

juxtaoral organ. The findings supporting the concepts of JOO's both secretory and mechanosensory functions, are examined. The analysis of the results of a number of studies is presented, which allows us to assert that the juxta-oral organ is not a rudimentary formation, it can be considered a normal anatomical structure, detected both in an adult and in fetuses. The location of the organ is typical near the duct of the parotid gland in the depths of the cheek tissues, medial and above the angle of the lower jaw.

The presence of epithelial cell nests with glandular or squamous cell differentiation in the juxtaoral organ indicates its epithelial nature. However, immunohistochemistry with positive expression of S-100 protein, neuron-specific enolase, neural adhesion molecules and nerve growth factor receptors allows researchers to think about the neural origin of the organ. Scientists' reflections on the function of the juxtaoral organ are also ambiguous.

Data are presented in favor of both mechanoreceptor and secretory functions of the Chivitz juxtaoral organ. The discovery of Pacini's little bodies in the juxtaoral organ suggests that the organ can perform chemosensory and barosensory functions. The high enzymatic activity of the parenchymal cells of juxtaoral organ on the example of the activity of alkaline phosphatase in the secretion of an organ, which is so unusual for the salivary glands, suggests that juxtaoral organ can be an endocrine gland and can a neuroendocrine function.

Information is presented that, since juxtaoral organ is deeply immersed in soft tissues, it can mimic odontogenic tumors or perineural carcinoma invasion.

Key words: Juxtaoral organ, benign tumor, function, Chivitz gland, anatomy, oral cavity.

Юкстаоральный орган (ЮОО) впервые был описан Й. Х. Хивицем в 1885 году в его работе «Вклад в историю развития слюнных желёз» в ходе изучения эмбрионального развития слюнных желез человека [2]. Само название «около-ротовой» (юкстаоральный) орган было предложено в 1962 г. G. M. Salzer и W. Zenker, ставшее в последствии общепринятым [1]. Позже ЮОО был описан также у представителей многих классов животного мира, в том числе в эмбриогенезе человека [3; 7; 8].

Возникновение ЮОО связывают либо с ходом развития околоушной железы (ОУЖ), либо с отделением участка эпителия в области границы между максиллярным и мандибулярным отростками после их слияния в процессе эмбрионального развития. Непосредственно после открытия ЮОО первоначально преобладало мнение, что он существует только как эмбриональная структура, которая подвергается дегенерации еще во внутриутробном периоде и является, отчасти, рудиментарным образованием. Ряд исследователей выдвигают предположение, что ЮОО является парным органом, который постоянно присутствует в щеке человека и млекопитающих, его можно рассматривать как нормальную анатомическую структуру [2].

Несмотря на то, что в настоящее время ЮОО уже не считается рудиментарным образованием, в тоже время анатомия, топография, гистофизиология и функции данной структуры до сих пор остаются предметом дискуссий в научном сообществе. Исследования ЮОО в отечественной медицине практически не проводились.

Целью нашей работы явилось описание функции, местоположения, строения и свойств малоизученного органа ротовой полости — юкстаорального органа (органа Хивица).

Юкстаоральный орган макроскопически выглядит как тонкая структура, имеющая вид белого тяжа, напоминающего нерв, у взрослых дли-

ной 7–17 мм, диаметром 1–2 мм, которая была обнаружена возле протока околоушной железы в глубине тканей щеки медиальнее и выше угла нижней челюсти в области щечно-височного пространства между височной и щечной мышцами (в большинстве случаев в составе щечной мышцы, в остальных случаях вблизи крыловидно-нижнечелюстного шва) [2].

Гистологически ЮОО представлен в виде эпителиальных клеточных гнезд с железистой или плоскоклеточной дифференцировкой, имитирующих одонтогенные опухоли или периневральную инвазию карциномы. Иммуногистохимический анализ показал положительную экспрессию белка S-100, нейронспецифической енолазы, молекул адгезии нервных клеток и рецепторов фактора роста нервов, что подтверждает теорию о том, что эти клетки имеют нервное происхождение [10].

Наличие плоских эпителиальных гнезд, тесно смешанных с многочисленными мелкими ветвями щечного нерва, было неверно истолковано на исследованных биоптатах как периневральная инвазия плоскоклеточным раком [15; 19].

На вопрос, какие же функции выполняет юкстаоральный орган в организме человека, учёные пока ответить не могут. По результатам проведённых исследований ученым удалось выдвинуть ряд гипотез.

С тех пор как датский анатом Йохан Хеник Хивиц в 1885 году описал эту структуру у 10-недельного человеческого эмбриона, появилось предположение, что орган Хивица является рудиментарной структурой, представляющей собой недоразвитую слюнную железу. А. J. Ramsay, в частности, высказал предположение, что эта структура является лишь эпителиальным остатком, возникающим в результате слияния максиллярного и мандибулярного отростков, лишенным какой-либо функции, подобно эпителиальным остаткам в небном шве, образуя-

щимся при слиянии в эмбриогенезе небных отростков [16].

Существует несколько противоположных мнений. Основываясь на электронно-микроскопических и гистохимических данных, была поднята возможность нейросекреторной и рецепторной функции органа [19].

Исходя из данных о находящихся в ЮОО многочисленных нервных волокнах и рецепторов разных типов, ряд исследователей предполагают, что ЮОО выполняет механорецепторную функцию, связанную с рефлексом питания: глотанием, сосанием, жеванием (аналогично тельцу Пачини) [14]. Эта гипотеза подтверждается и при изучении эмбриогенеза органа: ЮОО начинает иннервироваться одновременно с появлением у эмбриона первых рефлексов, связанных с движениями щек [13].

Сенсорная функция ЮОО была подтверждена иммуногистохимическими методами с использованием антител против легкоцепочечного цитокератина (KL-1), цитокератина 19, десмина, хромогранина, нейрон-специфической енолазы и белка S-100. Было обнаружено, что эпителиальные клетки иммунореактивны только с двумя цитокератиновыми антителами. Также была проведена просвечивающая электронная микроскопия. Результаты были лучше всего совместимы с механорецепторной функцией органа. В одном изолированном случае был обнаружен эпителий плоского типа, сопровождающийся тельцами Пачини [1]. Это открытие, по-видимому, является первым сообщением о подлинных нервных окончаниях Пачини в ЮОО, поддерживающих его механосенсорную функцию. Представление о механосенсорной функции ЮОО косвенно поддерживается также результатами эмбриологического анализа. Так, сопоставление развития височно-нижнечелюстного сустава и ЮОО показывает, что начало движений щек (на 7–8-й неделе развития) совпадает по времени с иннервацией ЮОО (стадия 20 Карнеги, примерно 49-е сутки внутриутробного развития). На основании приведенных данных, предполагается, что ЮОО функционально связан с механической активностью области щеки и рта. Эпителиальные разрастания, как считают некоторые авторы, могут изменяться в ответ на прилагаемое давление, участвуя, тем самым, в механорецепторной функции [9]. Однако, Тельца Пачини помимо механорецепторной функции также могут выступать в роли хеморецепторов (пластинчатое тельце покрыто тонкой капсулой из соединительной ткани, а в области концевой полюса имеется извилистый канал, через который в пространство между внутренней и наружной капсулами проникают различные вещества, вследствие чего происходит возникнове-

ние нервного импульса). А также барорецепторов (сеть капилляров в пространстве между наружной и внутренней капсулами изменяет состояние вторично чувствующих клеток за счёт изменения давления на них крови, что вызывает индуцирование нервного импульса). Данные функции тельца Пачини и наличие этих тельца в ЮОО дает возможность предположить, что ЮОО может выполнять хемосенсорную и баросенсорную функции [1].

Паренхиматозные клетки ЮОО обладают богатой ферментативной активностью, что указывает на высокий уровень метаболизма. Одно исследование продемонстрировало высокую активность щелочной фосфатазы в секрете органа, не характерную для околоушной железы и мелких буккальных слюнных желез. Судя по изученным гистологическим препаратам, данный орган не обладает выводковыми протоками, и это еще раз подтверждает предположения Н.В. Schulte о том, что ЮОО является железой внутренней секреции. Возможным отражением эндокринной функции ЮОО также считают его атрофию у крыс после гипофизэктомии. На основе этих фактов выдвинута гипотеза о нейроэндокринной функции ЮОО [2; 13].

Все бы ничего, но с представлениями о секреторной функции ЮОО не согласуется умеренное развитие капиллярной сети внутри и вокруг органа, которое не соответствует уровню, характерному для желез, в особенности эндокринных [2; 14].

Генетические исследования показали, что на развитие ЮОО и околоушных желёз влияла одна и та же мутация. Выдвигались предположения, что ЮОО представляет собой зачаток околоушной железы. Но впоследствии было выявлено, что ЮОО не имеет реальной связи ни с протоком околоушной железы, ни с эпителием ротовой полости [12].

Так как изучение ЮОО проводилось также на плоде человека, то следует обратить внимание на анализ проведенных исследований в процессе формирования ЮОО в пренатальном периоде. В процессе эмбрионального развития ЮОО J. R. Merida-Velasco и соавт. выделили 3 стадии:

1. период конденсации и инвагинации эпителия;
2. период отделения ЮОО от эпителия полости рта и иннервации его закладки
3. период формирования соединительнотканной капсулы, отделяющей ЮОО от окружающих тканей [13].

Период конденсации и инвагинации

Первый период эмбриогенеза заключается в конденсации и инвагинации эпителия и охваты-

вает начальные модификации эпителия полости рта, которые обуславливают появление в нем закладки будущего ЮОО и ее погружение в мезенхиму.

Период отделения ЮОО от эпителия полости рта и иннервации его закладки

Данный этап эмбриогенеза ЮОО состоит из двух стадий: 1-я стадия отделения закладки ЮОО от эпителия ротовой полости, 2-я стадия её иннервации [2; 18]. По данным J. R. Merida-Velasco и соавт. [13], околоушной орган отделяется от эпителия ротовой полости на 18-19 стадиях Карнеги. Однако другие исследователи [5; 11; 16] считают, что ЮОО вступает в стадию отделения от эпителия ротовой полости позже 18 стадии Карнеги. Нет данных, подтверждающих связь закладок юкстаорального органа и околоушной слюнной железы (ОУСЖ), но ввиду их близкого расположения часть авторов утверждает обратное. На данной стадии ЮОО приобретает вид тяжа с просветом внутри. Известно, что ЮОО находится медиальнее *m. pterygoideus medialis*, а околоушная слюнная железа (ОУСЖ) – латеральнее *m. masseter*, что исключает возможность зависимости развития ЮОО от ОУСЖ.

Вторая стадия (иннервации закладки ЮОО) включает в себя формирование обильной сети нервных волокон вокруг околоушного органа, являющихся ветвями щёчного нерва. Этот процесс описан многими авторами и разногласия между ними сводятся только к определению сроков иннервации ЮОО [3, 4, 6, 16]. По данным детального исследования [13], обнаружена тесная связь околоушного органа с нижнечелюстным нервом. Знание иннервации ЮОО необходимо для понимания хода развития эпителиального и стромального компонентов органа. Присутствие меланоцитов в структуре ОРО доказывает влияние на его дифференцировку нервного гребня.

Период формирования соединительнотканной капсулы

Данный этап характеризуется образованием уплотненного слоя соединительной ткани вокруг ОРО, который пронизывается ветвями щечного нерва. В. Л. Быков [2] предполагает, что ЮОО обладает большей чувствительностью к индуцирующим факторам, нежели другие слюнные железы. Этим фактором может являться мезенхима, которой вокруг ОРО сравнительно немного [13; 18].

После 28 недели орган окончательно окружен выраженной капсулой из плотной волокнистой соединительной ткани. Приведенные описания ОРО мало сопоставимы с представлениями о нем как об анатомической структуре, претерпевшей инволюцию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время точная функция ЮОО не установлена. Некоторые исследователи полагают, что данный орган выполняет либо рецепторную, либо нейросекреторную функции. Вокруг этой темы велись, ведутся и будут вестись многочисленные споры. Однако уже на сегодняшний день есть достаточно информации, чтобы рассматривать ЮОО как орган и отличить ЮОО от каких-либо опухолей данной области.

Учитывая тот факт, что о существовании юкстаорального органа Хивица имеют представление только 15% челюстно-лицевых хирургов, онкологов, стоматологов и других специалистов, работающих с ротовой полостью, то представленная информация об органе позволяет исключить ошибочный диагноз. Специалист, знающий о существовании ЮОО, дифференцирует неоплазию, так как сам орган имеет характерные для него индивидуальные особенности — помимо своего расположения, он имеет два волокнистых слоя, которые могут быть определены даже в небольших фрагментах, множество миелоновых нервных волокон, высокую степень иннервации и васкуляризации, а также специфическое строение — множество эпителиальных гнезд.

Необходимо отметить, что в России уже запатентована программа ЭВМ «Программа дифференциальной диагностики анатомо-топографической локализации юкстаорального органа», которая должна сыграть практическую роль в патоморфологической диагностике неопластических процессов в органах и тканях ротовой полости и дифференциальной диагностике с юкстаоральным органом Хивица

ЛИТЕРАТУРА

1. Большая советская энциклопедия: [в 30 т.]. Фатера - Пачини тельца / гл. ред. А. М. Прохоров. 3-е изд. М.: Советская энциклопедия; 1978:1969-1978.
2. Быков В. Л. Околоушной орган Хивица, Морфология. 2009;136(6):84-95.
3. Boyd J.D., Hughes F.W. Aberrant nerve fibres in human development. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1960;8:119-129.
4. Brachet A. Sur le tractus bucco-pharyngien, organe de Chievitz, 'Orbital inclusion'. *C.R. Hebd. Soc. Biol.* 1919;71:923-925.
5. Bujard F. Reconstruction plastique des glandes salivaires d'un foetus humaine de 10 semaines environ. *Anat. Anz.* 1911;38:115-127.
6. Chievitz J.H. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. *Arch. Anat. Physiol.* 1885;9:401-436.

7. Everson J. W. Embryonic rests and heterotopias. Cardesa A., Slootweg P.J., eds. Pathology of the Head and Neck. Berlin, Springer-Verlag; 2006.
8. Fahrenholtz C. Drüsen der Mundhöhle. In Bolk's Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Berlin, Urban u. Schwarzenberg. 1937;3:115–210.
9. Ide F, Mishima K, Saito I. Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. J Oral Pathol. Med. 2004;33(7):443-444.
10. Kim H. S., Kim J. H., Cha I. H., Kim T. S., Ryu M. H., Kim J. Juxtaoral organ of Chievitz. The Korean Journal of Pathology. 2005;39:265-268.
11. Kleiss C., Kleiss E. Über einige morphogenetische Einzelheiten des juxtaoralen (oder Chievitz'schen) Organs beim Menschen. Z. mikr.-anat. Forsch. 1985;99:59–74.
12. Kusafuka K., Kameya T. Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. Pathology international. 2007;57:754-756.
13. Merida-Velasco J. R., Rodriguez-Vazquez J. F., de la Cuadra- Blanco C. et al. Morphogenesis of the juxtaoral organ in humans. J. Anat. 2005;206(2):155–163.
14. Palazzolo M. J., Fowler C. B., Magliocca K. R., Gnepp D. R. Neuroepithelial structures associated with the subepithelial nerve plexus of taste buds: a fortuitous finding resembling the juxtaoral organ of Chievitz. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology. 2014;117:497-501.
15. Pantanowitz L., Balogh K. Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). Head Neck. 2003;25(5):400-405.
16. Ramsay A. J. Persistence of the organ of Chievitz in the human. Anat. Rec. 1935;63:281–293.
17. Roşu Ş., Neamţu C., Totolici B. Unusual lesion of the temporal region, benign tumor of the Chievitz's organ: a case report. 2014; 55:683-685.
18. Salzer G. M., Zenker W. Das Juxtaorale Organ. Bibl. Anat. Fasc. 3. Basel, Karger; 1962.
19. Sternberg SS. Histology for pathologists. Raven-Lippincott; 1992.
4. Brachet A. Sur le tractus bucco-pharyngien, organe de Chievitz, 'Orbital inclusion'. C.R. Hebd. Soc. Biol. 1919;71:923– 925.
5. Bujard F. Reconstruction plastique des glandes salivaires d'un foetus humaine de 10 semaines environ. Anat. Anz. 1911;38:115–127.
6. Chievitz J.H. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. Arch. Anat. Physiol. 1885;9:401–436.
7. Everson J. W. Embryonic rests and heterotopias. Cardesa A., Slootweg P.J., eds. Pathology of the Head and Neck. Berlin, Springer-Verlag; 2006.
8. Fahrenholtz C. Drüsen der Mundhöhle. In Bolk's Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Berlin, Urban u. Schwarzenberg. 1937;3:115–210.
9. Ide F, Mishima K, Saito I. Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. J Oral Pathol. Med. 2004;33(7):443-444.
10. Kim H. S., Kim J. H., Cha I. H., Kim T. S., Ryu M. H., Kim J. Juxtaoral organ of Chievitz. The Korean Journal of Pathology. 2005;39:265-268.
11. Kleiss C., Kleiss E. Über einige morphogenetische Einzelheiten des juxtaoralen (oder Chievitz'schen) Organs beim Menschen. Z. mikr.-anat. Forsch. 1985;99:59–74.
12. Kusafuka K., Kameya T. Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. Pathology international. 2007;57:754-756.
13. Merida-Velasco J. R., Rodriguez-Vazquez J. F., de la Cuadra- Blanco C. et al. Morphogenesis of the juxtaoral organ in humans. J. Anat. 2005;206(2):155–163.
14. Palazzolo M. J., Fowler C. B., Magliocca K. R., Gnepp D. R. Neuroepithelial structures associated with the subepithelial nerve plexus of taste buds: a fortuitous finding resembling the juxtaoral organ of Chievitz. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology. 2014;117:497-501.
15. Pantanowitz L., Balogh K. Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). Head Neck. 2003;25(5):400-405.
16. Ramsay A. J. Persistence of the organ of Chievitz in the human. Anat. Rec. 1935;63:281–293.
17. Roşu Ş., Neamţu C., Totolici B. Unusual lesion of the temporal region, benign tumor of the Chievitz's organ: a case report. 2014; 55:683-685.
18. Salzer G. M., Zenker W. Das Juxtaorale Organ. Bibl. Anat. Fasc. 3. Basel, Karger; 1962.
19. Sternberg SS. Histology for pathologists. Raven-Lippincott; 1992.

REFERENCES

1. Great Soviet Encyclopedia: [30 vol.]. Vatera - Pacini corpuscles / Ed. A. M. Prokhorov. 3rd ed. M.: Soviet encyclopedia, 1978:1969 – 1978. (In Russ)
2. Bykov V. L. Near-mouth organ of Chivitz, Morphology. 2009;136(6):84-95. (In Russ).
3. Boyd J.D., Hughes F.W. Aberrant nerve fibres in human devel- opment. J. Embryol. Exp. Morphol. 1960;8:119–129.
4. Brachet A. Sur le tractus bucco-pharyngien, organe de Chievitz, 'Orbital inclusion'. C.R. Hebd. Soc. Biol. 1919;71:923– 925.
5. Bujard F. Reconstruction plastique des glandes salivaires d'un foetus humaine de 10 semaines environ. Anat. Anz. 1911;38:115–127.
6. Chievitz J.H. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. Arch. Anat. Physiol. 1885;9:401–436.
7. Everson J. W. Embryonic rests and heterotopias. Cardesa A., Slootweg P.J., eds. Pathology of the Head and Neck. Berlin, Springer-Verlag; 2006.
8. Fahrenholtz C. Drüsen der Mundhöhle. In Bolk's Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Berlin, Urban u. Schwarzenberg. 1937;3:115–210.
9. Ide F, Mishima K, Saito I. Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. J Oral Pathol. Med. 2004;33(7):443-444.
10. Kim H. S., Kim J. H., Cha I. H., Kim T. S., Ryu M. H., Kim J. Juxtaoral organ of Chievitz. The Korean Journal of Pathology. 2005;39:265-268.
11. Kleiss C., Kleiss E. Über einige morphogenetische Einzelheiten des juxtaoralen (oder Chievitz'schen) Organs beim Menschen. Z. mikr.-anat. Forsch. 1985;99:59–74.
12. Kusafuka K., Kameya T. Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. Pathology international. 2007;57:754-756.
13. Merida-Velasco J. R., Rodriguez-Vazquez J. F., de la Cuadra- Blanco C. et al. Morphogenesis of the juxtaoral organ in humans. J. Anat. 2005;206(2):155–163.
14. Palazzolo M. J., Fowler C. B., Magliocca K. R., Gnepp D. R. Neuroepithelial structures associated with the subepithelial nerve plexus of taste buds: a fortuitous finding resembling the juxtaoral organ of Chievitz. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology. 2014;117:497-501.
15. Pantanowitz L., Balogh K. Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). Head Neck. 2003;25(5):400-405.
16. Ramsay A. J. Persistence of the organ of Chievitz in the human. Anat. Rec. 1935;63:281–293.
17. Roşu Ş., Neamţu C., Totolici B. Unusual lesion of the temporal region, benign tumor of the Chievitz's organ: a case report. 2014; 55:683-685.
18. Salzer G. M., Zenker W. Das Juxtaorale Organ. Bibl. Anat. Fasc. 3. Basel, Karger; 1962.
19. Sternberg SS. Histology for pathologists. Raven-Lippincott; 1992.

УДК: 616.98-036-07-08:578.834.11.

DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-69-81

КОРОНАВИРУСЫ (ТАКСОНОМИЯ, СТРУКТУРА ВИРУСА)

Хайтович А. Б.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Хайтович Александр Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, e-mail: khaytovych@rambler.ru

For correspondence: Aleksandr B. Khaitovich, MD, Professor of the Department of Microbiology, Virusology and Immunology, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia. E-mail: khaytovych@rambler.ru

Information about author:

Khaitovich A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9126-1182>

РЕЗЮМЕ

Обзор посвящен малоизвестной и недостаточно изученной до последнего времени таксономической группе вирусов - коронавирусам. В публикации приводятся определения: «коронавирусы» и «коронавирусная инфекция». Обсуждаются вопросы современной таксономии коронавирусов и ее становление от открытия первого коронавируса до появления последнего пандемического вида - SARS-CoV-2. Описываются современные результаты изучения морфологии, строения и структуры вирусной клетки у коронавирусов, особенностей у различных представителей, вызывающих заболевания у людей и имеющие медицинское значение. Указывается на различия в строении и структуре вирусов разных видов и предлагается условно разделить на «особо опасные» и «банальные» группы коронавирусов. Для анализа вирусологических проблем использованы современные литературные источники, мнение международных организаций, статьи в ведущих мировых медицинских и биологических журналах. В последующих публикациях тема коронавирусов и коронавирусной инфекции будет продолжена.

Ключевые слова: коронавирус, таксономия, морфология, структура

CORONAVIRUS (TAXONOMY, VIRUS STRUCTURE)

Khaitovich A. B.

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The review is devoted to the little-known and insufficiently studied until recently taxonomic group of viruses - coronaviruses. The publication provides definitions: «coronaviruses» and «coronavirus infection». The issues of modern taxonomy of coronaviruses and its development from the discovery of the first coronavirus to the emergence of the last pandemic species - SARS-CoV-2 are discussed. The modern results of studying the morphology, structure and structure of the viral cell in coronaviruses, the characteristics of various representatives that cause diseases in humans and are of medical importance are described. The differences in the structure and structure of viruses of different types are pointed out and it is proposed to conditionally divide into «especially dangerous» and «banal» groups of coronaviruses. To analyze virological problems, modern literary sources, the opinion of international organizations, articles in the world's leading medical and biological journals were used. In subsequent publications, the topic of coronaviruses and coronavirus infection will be continued.

Key words: coronavirus, taxonomy, morphology, structure

Коронавирусы - это группа вирусов (более 40 видов), из которых в настоящее время 7 видов имеют медицинское значение; являются природно-очаговыми инфекциями; вызывают патологические процессы у человека инфекционной этиологии; протекают клинически разнообразно с мультисистемной патологией и с разной степенью тяжести; развиваются эпидемиологические процессы среди человеческой популяции; разные виды коронавирусов имеют не одинаковый характер распространения и инфицирования среди людей: некоторые виды относят к группе

спорадических инфекций, другие виды обладают способностью к эпидемическому, и даже – пандемическому распространению; по действующим Международным медико-санитарным правилам (2005) некоторые виды коронавирусов вызывают инфекционные процессы, при которых необходимо вводить «чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения, имеющих международное значение» и должны быть оценены как «случаи болезней, которые являются необычными и могут оказать серьезное воздействие на здоровье населения» [1].

Коронавирусные инфекции - это группа инфекционных заболеваний животных и у людей (зоонозы и антропозоонозы); вызываются вирусами, относящиеся к определенной таксономической группе; способны вызывать патологические процессы разнообразного клинического течения и разной степени тяжести, от бессимптомных и легких форм до крайне тяжелых форм; некоторые инфекционные заболевания вызывают эпидемические и пандемические процессы.

Название вируса связано с их электронно-микроскопической характеристикой (рисунок 1), когда была описана их форма, которая напоминала корону (пепломеры создают вокруг оболочки вирионов выраженное зубчатое обрамление подобное короне). По электронной микроскопии все вирусы одинаковы, хотя и вызывают разную клиническую патологию и тяжесть заболевания, а также имеют особенности в строении вирусов и геномов [2].

Таксономическое положение коронавирусов.

Впервые коронавирус выделен Schalk A.F., Hawn M.C. (1931 г.), который вызывал «новое респираторное заболевание» у цыплят и был идентифицирован как вирус инфекционного бронхита (Infectious bronchitis virus - IBV), в настоящее время носит название коронавирус птиц (Avian coronavirus - ACoV) [3]. В последующие годы и десятилетия было открыто множество различных по происхождению видов коронавирусов (HCoV), выделенных от млекопитающих и птиц, но только в 1968 г. они объединились в группу *Coronavirus* [4]. В каталогах Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses - ICTV) группа коронавирусов появились в 1971 г., когда были объединены в отдельный род, а в 1976 г. - таксономический ранг повысился до семейства [5, 6].

Дальнейшее совершенствование классификации коронавирусов происходила на основании описанных белков у вирусов и их строения. В 1996 г. на X Международном вирусологическом

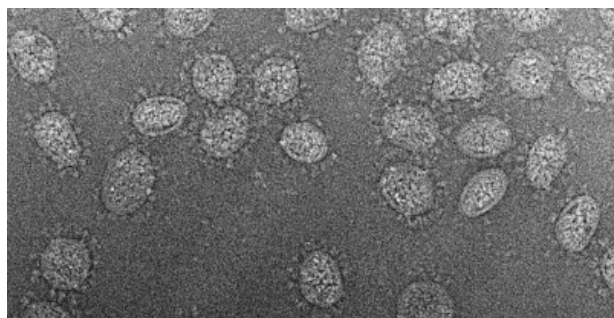


Рисунок 1. Криоэлектронная микроскопия коронавируса [2].

конгрессе была предложена таксономическая группа – отряд, названный *Nidovirales* (от лат. *nidos* – гнездо), поскольку экспрессия генома у вирусов включает синтез 3'-котерминальных вложенных субгеномных мРНК [7].

К концу XX века в научных вирусологических кругах сложилось мнение о роли HCoV в ветеринарной патологии, слабо связанной с патологией человека. Однако начало XXI века изменило эти представления, поскольку стали выявлять новые вирусы, не только вызывающие заболевания у различных млекопитающих и птиц, но и у людей в виде эпидемических проявлений [8].

В 1965 г. впервые у людей обнаружен коронавирус *HCoV 229E* - *human coronavirus*, вызывающий заболевание - коронавирус человека 229E [9].

В 1966 г. у людей выделили коронавирус *HCoV OC43* - *human coronavirus OC43*, который является этиологическим фактором болезни - коронавирус человека OC43. Заболевания, вызванные обоими вирусами, в основном, протекали с легкими клиническими проявлениями по типу острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) [10, 11, 12].

В Южном Китае (2002 г.) появились неизвестные заболевания, вызывающие, атипичную пневмонию, которая в дальнейшем распространилась в разные страны и на разные континенты, а затем вызвала эпидемию. Специальные вирусологические и молекулярно-генетические исследования установили этиологическую причину заболевания, которое было связано с неизвестным коронавирусом *SARS-CoV* (от англ. *severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* - *SARS coronavirus*), вызывающий заболевание – тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) [13, 14].

Голландские ученые (2004 г.) при исследовании материала, забранного от человека с клиникой ОРВИ, выделили неизвестный коронавирус HCoV-NL-63 (от англ. *sample number 63 from Netherlands* - *human coronavirus NL63*), вызывающий заболевание - коронавирус человека NL63 [15-17].

Сотрудники Гонконгского университета позднее (2005 г.) обнаружили в материале от больного с клиническими проявлениями двухсторонней пневмонии другой новый коронавирус - *HCoV HKU1* (от англ. *Hong Kong University* с номером 1 - *human coronavirus HKU1*), вызывающий заболевание - коронавирус человека *HKU1* [18]. Заболевания, вызванные обоими вирусами, в основном, клинически протекали подобно болезням, ранее описанные в легкой форме, сопровождающимися симптомами ОРВИ, но иногда эти виды вызывали заболевания клинически

протекающие как тяжелый синдром атипичной пневмонии [18].

В Саудовской Аравии (г. Джидда, 2012 г.) при исследовании назофоренгиального смыва, взятого от мужчины с ОРВИ, выделен новый вирус *MERS-CoV* (от англ. middle east respiratory syndrome coronavirus - *MERS-CoV coronavirus*), вызывающий клинически ближневосточный респираторный синдром (БВРС) и обладавший способностью к эпидемическому распространению в мире [19].

В г. Ухань (провинция Хубэй, Китай, 8 декабря 2019 г.) официально был зарегистрирован первый случай заболевания человека, вызванный неизвестным возбудителем [20].

31 декабря 2019 г. из средств массовой информации стало известно, что городская комиссия здравоохранения представила первый официальный отчет в Министерство здравоохранения (Пекин, Китай) о появлении на территории города заболеваний, которые регистрировались как атипичная пневмония неясной этиологии [21].

7 января 2020 г. был идентифицирован новый вирус, относящийся к семейству *Coronaviridae*, и получивший временное название 2019-nCoV (от англ. - novel coronavirus 2019) [22].

10 января 2020 г. Genbank впервые опубликован полный геном первого штамма вируса 2019-nCoV (*Wuhan-Hu-1* под номером MN908947, RefSeq NC_045512) [23, 24].

30 января 2020 г., при большом количестве инфицированных людей и летальных случаев заболевания, вначале в г. Ухань, а затем на других территориях Китая, и в некоторых близко расположенных странах Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила происходящую вспышку, вызванную вирусом 2019-nCoV, чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющее международное значение [25].

12 февраля 2020 г. ВОЗ присвоило заболеваниям, вызываемым вирусом 2019-nCoV, новое название - COVID-19 (от англ. coronavirus disease - 2019) и определило его положение в Международной классификации болезней, присвоив коды [26]. По результатам изучения нескольких сотен геномов коронавирусов штаммов 2019-nCoV, обнаруженных в ходе протекавшего эпидемического процесса в мире, ICTV приняло решение о переименовании вируса 2019-nCoV в вирус *SARS-CoV-2* (от англ. - severe acute respiratory syndrome 2 – SARS coronavirus 2), вызывающего коронавирусную инфекцию COVID-19 [26, 27].

11 марта 2020 г. в связи с расширением географического масштаба распространения эпидемии и заболеваний, зарегистрированных на

большинстве континентов и почти во всех странах мира, вызванной *SARS-CoV-2*, ВОЗ объявила эпидемию COVID-19 - пандемией COVID-19 [28, 29, 30].

К концу первого десятилетия XXI века начала оформляться современная классификация коронавирусов: образовался род *Coronavirus* в составе семейства *Coronaviridae*, и подсемейства *Orthocoronavirinae*. Разделение на более низкие таксономические категории: роды, подроды, виды произошло позднее после детального изучения вирусов и их клеточных рецепторов, которые не были связаны с их различиями у видов биологических объектов (люди, млекопитающие, птицы) [31, 32, 33].

Изучение клеточных рецепторов у различных коронавирусов, в том числе играющих роль в патологии человека показало, что выявляются некоторые особенности.

Коронавирусы первой группы использовали в качестве клеточного рецептора N-аминопептидазу (aminopeptidase-N - APN), известного как кластер дифференцировки CD13 (англ. cluster of differentiation, cluster designation - CD). CD получил название в соответствии с номенклатурой дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека и является рецепторами между взаимодействующими вирусами и клетками-хозяина. Группа разделялась на две подгруппы из-за различий в структуре 3' концевого набора генов. Подгруппа 1a, в которую входили вирусы млекопитающих и птиц, не отличались между собой. Подгруппа 1b включала как коронавирусы играющие роль в патологии человека (*HCoV-229E*, *HCoV-NL63*), так и вызывающие патологию у животных, птиц, когда в геноме находилась дополнительная рамка считывания для одного или двух неструктурных белков между генами S и E [8, 33 - 39].

Коронавирусы второй группы подразделялись на 2A, 2B, 2C подгруппы. Вирусы 2A подгруппы включали два разных клеточных рецептора: в первую – молекулу клеточной адгезии, ассоциированную с раково-эмбриональным антигеном 1 типа (carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 1 - CEACAM1), являющийся маркером CD66a; во вторую – молекулу N-ацетил-9-O-ацетилнейраминовой кислоты (N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid – N-aneu9Ac), включающую вирус, вызывающий заболевания у людей *HCoV-HKU1*. Специфичность этой классификационной группы определялась наличием гликопротеина гемагглютинин-эстеразы, аффинной к сиалозидам. Вирусы 2B подгруппы специфически связывалась с ангиотензинпревращающим ферментом 2 типа (angiotensin converting enzyme 2 - ACE 2) и до-

полнительно их объединяла близость по концевым генам RdRp, Hel, N. В эту подгруппу входили вирусы, также вызывающие заболевания у людей *HCoV-NL-63*, *SARS-CoV*, *SARS-CoV-2*. Вирусы подгруппы 2С обладали рецептором - дипептидипептидаза 4 типа (dipeptidyl peptidase 4 - DPP4), которая являлась маркером CD26 и определялась у вируса *MERS-CoV*, имеющим медицинское значение [8, 33 - 39].

Вирусы третьей группы объединила коронавируса специфичные к $\alpha 2'-3'$ сиалозидам - полисахаридам, терминированной сиаловой или N-ацетилнейроминовой кислотой (N-acetylneuraminic acid N-aneuAc), связанной с моносахаридом $\alpha 2'-3'$ связью, в которую входили коронавирусы млекопитающих и птиц, и не входили коронавирусы вызывающие патологию у человека. Группа дифференцировалась на три подгруппы вирусов из-за различий в структуре 3' концевого набора генов. Подгруппа 3А включала вирусы, которые содержали рамки считывания для двух неструктурных белков; подгруппа 3В - содержала вирус и имела рамки считывания для трех неструктурных белков; подгруппа 3С, в которую входили вирусы обладающие рамкой считывания для более трех неструктурных белков между генами S и E [8, 33 - 39].

Сложившаяся таксономическая структура коронавирусов оказалась мозаичной, что потребовало изменения в классификации в сторону повышения ранга таксонов. Предложение реализовалось в IX Таксономическом каталоге ICTV (2011 г.): род *Coronavirus* перешел в категорию подсемейства *Coronaviridae*. Вместо рода *Coronavirus* описано четыре новых рода, обозначенные буквами латинского алфавита: первый род - *Alphacoronavirus* (1 группа), второй род - *Betacoronavirus* (2 группа), третий род - *Gammacoronavirus* (3 группа с подгруппами 3А и 3В), четвертый род - *Deltacoronavirus* (3 группа с подгруппой 3С) [40].

В 2018 г. таксономические структуры коронавирусов подверглась еще двум существенным изменениям. Во-первых, введена новая таксономическая категория у коронавирусов - подрод и проведена математическая оценка некоторых рангов (подрод, род, семейство). В основу разделения на подроды и другие таксономические категории, было положено выделение филогенетических дистанций (сумма различий по совокупности признаков между двумя узлами филогенетического дерева, измеренная вдоль соединяющих их ребер), построенная на основе изучения полноценных геномов. Оценка указанных таксономических категорий, установила критерии размеров для коронавирусов: для подрода - 0,186, рода - 0,789, подсемейства - 1,586,

но в дальнейшем предполагаются возможные изменения в зависимости от числа изученных коронавирусов [41]. Во-вторых, произошла замена двух подсемейств на одно, которое получило название *Orthocoronavirinae*. Исследователями установлено, что подсемейство связано с крылатыми животными, являющиеся резервуаром коронавирусов: рукокрылые - для родов *Alphacoronavirus* и *Betacoronavirus*, птицы - для родов *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Это является результатом расширения у коронавирусов спектра резервуара хозяев, вследствие их широкой экологической пластичности и позволило некоторым *HCoV* вызывать заболевания у людей и показать их эпидемиологическое значение [8, 33, 38].

Результаты генетического, филогенетического, фенотипического и эволюционного анализов геномов различных штаммов *HCoV* были взяты из двух баз данных Genbank и Глобальной инициативы по обмену данными о гриппе (Global Initiative on Sharing All Influenza Data - GISAID), куда вносились данные по геномам *HCoV*. Эти материалы использовались учеными разных стран для построения современной классификации *HCoV*, в том числе имеющих медицинское значение (таблица 1) [38, 42, 43].

Современная таксономическая классификация коронавирусов состоит из таксономических групп: царство - *Ribovirus*, порядок - *Nidovirales*, подпорядок - *Cornidovirinae*, семейство - *Coronavirus*, подсемейство - *Orthocoronavirinae*, роды - *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Deltacoronavirus*. Для определения таксономического построения внутриродовой классификации использовались результаты филогенетического изучения геномов (рисунок 2) [44].

В род *Alphacoronavirus* входят 2 подрода, в каждый входит по одному виду коронавирусов, имеющие медицинское значение: подрод *Davinalovirus* включает вид *HCoV 229E*, подрод *Setracovirus* - вид *HCoV NL63*.

В род *Betacoronavirus* входят 5 видов коронавирусов, имеющих медицинское значение, которые разделены на 3 подрода: в подрод *Embecovirus* входят два вида *HCoV HKU1*, *HCoV OC43*; подрод *Merbecoronavirus* включает один вид *MERS-CoV*; подрод *Sarbecovirus* содержит два вида: *SARS-CoV* и *SARS-CoV-2*.

Кроме видов *HCoV*, выделенных от людей, в эти роды *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Deltacoronavirus* входят и другие виды *HCoV*. Видовые названия *HCoV*, которые не вызывали заболевания у людей, получили от видовых названий тех млекопитающих и птиц, от которых изолированы (кошек,

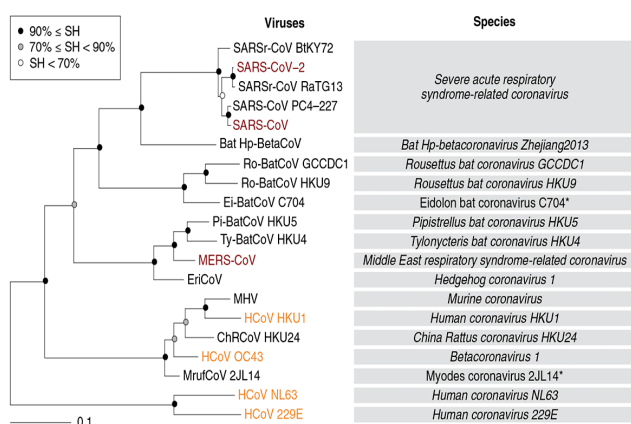


Рисунок 2. Филогенетическое дерево родства коронавирусов, в том числе имеющие медицинское значение [44].

Условные обозначения: красным цветом обозначены виды HCoV, которые вызывают заболевания у людей: темно-красным цветом - группа особо опасных HCoV, ярко-красным цветом - группа видов HCoV, которые относятся к «банальной» группе инфекций.

собак, свиней, хорьков, норок, летучих мышей разных видов, мышей, крыс, крупного рогатого скота, кроликов, китайских хорьковых барсуков, пальмовых циветт, нетопырей, косолапых кожанов, ночных крыланов, кур, индюков, фазанов, озерных чаек, белух, уток, гусей, голубей, соловьев, леопардов, камышниц, сорочьих славков, астрильд) [8, 38, 39, 40].

Эпидемическое распространение в человеческой популяции получили вирусы *SARS-CoV*, *MERS-CoV*, *SARS-CoV-2*, которые вызвали крупные эпидемии, а *SARS-CoV-2* и пандемию. Для заболеваний, вызванных этими коронавирусами, характерны некоторые особенности, которые позволяют их отнести к группе особо опасных вирусов. Их отличительные способности определяются рецепторной специфичностью к $\alpha 2' - 3'$ сиалозидам, подобной у некоторых вирусов гриппа А, определяющих способность проникать в нижние отделы респираторного тракта [45, 46, 47] и вызывать тяжелые инфекционные заболевания у людей, эпидемии и пандемии, что указывает на их определенную опасность для окружающих (вирусы относятся ко 2 группе патогенности микроорганизмов, работа с которыми требует набора биосдерживающих мер предосторожности, необходимой для работы с опасными биологическими агентами с уровнем биологической безопасности - BSL-3) [48]. Вирусы *SARS-CoV*, *MERS-CoV* и *SARS-CoV-2* - генетически разнородные, вызывают разные заболевания: вирус *SARS-CoV* - ТОРС (2002 г.);

вирус *MERS-CoV* - БВРС (2012 г.); вирус *SARS-CoV-2* - COVID-19.

Другие вирусы семейства *Coronavirinae*, подсемейства *Orthocoronavirinae*: *HCoV 229E*, *HCoV NL63*, *HCoV HKU1*, *HCoV OC43* вызывают заболевания у людей, но они отличаются по спектру клинических проявлений и по степени тяжести, а некоторые имеют отличия в морфологии вируса, и этим отличаются от группы особо опасных коронавирусов. Все четыре коронавируса распространены глобально во всем мире и вызывают от 15 до 30% случаев заболеваний у людей в структуре заболеваемости ОРВИ. Инфицированные лица не обладают высокой степенью контагиозности, как при особо опасных HCoV; подавляющее число заболеваний протекает в виде легких форм; редко регистрируются тяжелые клинические проявления при поражении нижних дыхательных путей у детей, у пожилых людей и пациентов с ослабленным иммунитетом. Приведенные аргументы позволяют этих представителей объединить в другую группу, отличающуюся от группы особо опасных коронавирусов.

Морфология и структура коронавирусов.

Все коронавирусы, независимо от того, какая тяжести течение заболевания; каковы клинические симптомы; какая степень эпидемиологической опасности существует для окружающих; обладают одинаковыми морфологическими свойствами и структурой, хотя некоторые отличия существуют у некоторых видов (рисунок 3) [46 -50].

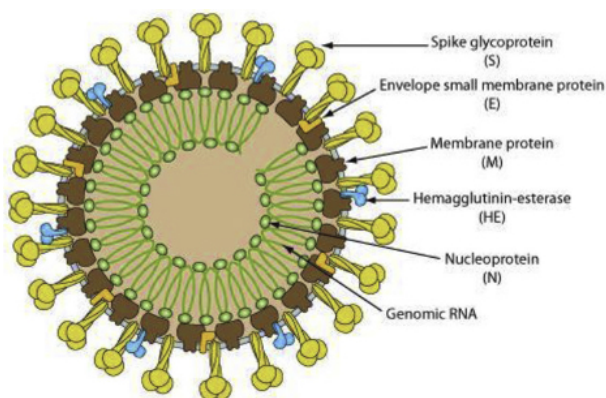


Рисунок 3. Схема коронавирусов [49].

Условные обозначения: Spike glycoprotein (S) – спайковый гликопротеин, Envelope small membrane protein (E) - оболочечный малый мембранный белок, Membrane protein (M) – мембранный белок, Hemagglutinin-esterase (HE) – гемагглютинин-эстераза, Nucleoprotein (N) - нуклеопротеин, Genomic RNA – геном РНК. (<http://ruleofsix.fieldofscience.com/2012/09/a-new-coronavirussould-you-care.html>)

Таблица 1

Современная таксономия коронавирусов, имеющих медицинское значение

Таксономическая категория	Латинское название	Штамм прототип	Источник выделения	Genbank ID
Царство	<i>Ribovirus</i>			
Порядок	<i>Nidovirales</i>			
Подпорядок	<i>Cornidovirinae</i>			
Семейство	<i>Coronavirus</i>			
Подсемейство	<i>Orthocoronavirinae</i>			
Род	<i>Alphacoronavirus</i>			
Подрод	<i>Davinalovirus</i>			
Вид	<i>HCoV-229</i>	Inf-1	Homo sapiens	NC002645
Подрод	<i>Setracovirus</i>			
Вид	<i>HCoV-NL-63</i>	Amsterdam 1	Homo sapiens	AY567987
Род	<i>Betacoronavirus</i>			
Подрод	<i>Embecovirus</i>			
Вид	<i>HCoV-HKU1</i>	HKU1	Homo sapiens	NC006577
Вид	<i>Betacoronavirus (HCoV-OC-43)</i>	HCoV-OC-43/ ATCC	Homo sapiens	AY391777
Подрод	<i>Merbecoronavirus</i>			
Вид	<i>MERS-CoV</i>	Jeddah/ Camel	Camelus dromedarius	KF917527
Подрод	<i>Sarbecovirus</i>			
Вид	<i>SARS-CoV</i>	GDOI	Homo sapiens	AY278489
Вид	<i>SARS-CoV-2</i>	Wuhan-flu-1	Homo sapiens	NC045512
Род	<i>Gammacoronavirus</i>			
Род	<i>Deltacoronavirus</i>			

Вирионы HCoV сферической формы в диаметре от 80 до 229 нм, самые крупные среди РНК-вирусов. РНК, которая имеет спиральную симметрию, располагается внутри нуклеопротеина (N-белка) и обе структуры вместе формируют нуклеокапсид (60 – 70 kDa). На наружной поверхности нуклеокапсида находится суперкапсидная оболочка сложного строения (бислоидная липидная оболочка), под которой располагаются четыре или пять структурных белков, которые формируют внешний слой коронавируса и защищают РНК, находящуюся внутри. Структурные белки определяют не только структуру вируса, но и принимают участие в репликации новых вирусных частиц, в сборке и выходе из клетки хозяина новых копий вируса [51 – 56].

N-белок (50 - 60 kDa) по химической структуре является фосфорилированным белком и защищает РНК-вирус, сохраняя его в устойчивом состоянии внутри вирусной оболочки, при этом большое количество белков соединяются друг с

другом в длинную спираль, обертываясь и наматываясь на РНК [51-54, 56, 57].

S-белок (150 - 220 kDa), располагается на поверхности билипидной оболочки вируса в виде булавоподобных отростков, поэтому называется спайковый белок (от англ. spikes - шип), что придает вирусу неповторимую форму короны. S-белок по химической структуре - гликопротеин, создающий тримеры в виде пепломеров, формирующие «зубцы короны» длиной 10–25 нм, эти протеины коронавируса определили название таксономической группы вирусов и обеспечивают проникновение вируса в соматическую клетку. Часть шипа может расширяться и присоединяется к разным белкам у разных видов, которые присутствует на клетках дыхательных путей и в клетках других органов и тканей разных систем человека, т.е. определяют адгезию и внедрение вируса в клетку. Вероятно, произошедшая некоторое время назад мутация или несколько мутаций, повлияло на эволюцию

вируса, что создало условия для перехода его от рукокрылых на человека и определило возможность шипам плотно связываться с клетками человека [51-53, 55-58].

М-белок (23 - 25 kDa) - мембранный, структурный белок НСoV, находится немного глубже спайкового белка, ближе к нуклеокапсиду, является трансмембранным белком, по химической структуре гликопротеин. М-белок является частью внешней оболочки вируса и обеспечивает форму вириона [51-53]. Исследования, проведенные с помощью криоэлектронной микроскопии и томографии, показали, что существуют две функционально отличные формы М-белка коронавируса. На большинстве вирусных частиц М-белок находится плотно упакованный по краю, а у некоторых характеризуются как размытый, который не вступает в контакт с РНК. Общую форму, плотно упакованную по краю, назвали М LONG, а короткую размытую - М COMPACT. Вирусные шипы находились как на М LONG, так и на М COMPACT, но отсутствовали на мембранах вируса без М-белка. Две формы М-белка представляли разные конформации одной и той же пептидной цепи. Эндодомены М-белка самостоятельно собирались в олигомерные комплексы при 37 °С, при этом формировалась выпуклая, жесткая вирусная оболочка, которую назвали М LONG. М LONG, стабилизировался белками S, N и E. М-белок – это димерный белок, который контролирует размер частиц и эффективность сборки [54, 56, 57, 59].

Е-белок (9 - 12 kDa) оболочечный структурный белок примыкает к нуклеокапсиду, который выявляется только среди вирусов подсемейства Orthocoronavirinae. Е-белок помогает сформировать маслянистый пузырек вируса и выполнить функции, находясь уже внутри инфицированной клетки. Пентамеры белка Е формируют ионные каналы и представляют собой важный фактор патогенности НСoV (пентамеров в оболочке нескольких копий на вирион). Е-белок встроен в оболочку, может соединяться с белками, помогающие регулировать гены, активно изменять паттерн активации собственных генов человека и участвовать в сборке вириона и выходе вириона за пределы клетки [51-53, 55-58].

У некоторых коронавируса (*НСoV-OC43* и *НСoV-НКУ1*) находится еще дополнительно поверхностный гемагглютинин-эстераза (НЕ-белок, 9 - 12 kDa), по химической структуре гликопротеин. Вирусы, обладающие НЕ-белком, имеют гемагглютинирующую и эстеразную активности, которые используют в качестве механизма вторжения в соматическую клетку, помогают в прикреплении и разрушении определенных рецепторов сиаловой кислоты, кото-

рые находятся на поверхности клетки - хозяина. НЕ-белок представляет собой димер трансмембранного белка, состоящий из двух мономеров, где каждый состоит из трех доменов. Эти три области являются связывающими доменами: слияние мембран, эстеразы и рецепторов. У всех особо опасных вирусов *SARS-CoV*, *MERS-CoV*, *SARS-CoV-2* белок НЕ отсутствует [8, 33, 40, 51, 57-59].

Все структуры вирусной клетки детерминированы генами вируса, которые имеют некоторые отличия у разных вирусов, и определяют процесс изменчивости вирусов и репликацию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время с использованием новых методов лабораторных исследований и вычислительных технологий сформировалась современная таксономическая структура коронавируса, изучение которой происходит уже более 80 лет. Новые подходы в изучении и обработке полученных результатов позволили быстро изучить филогенетическое родство различных вирусов, в том числе и коронавируса, которые впервые были описаны в XXI веке и позволили создать современную таксономию коронавируса. Из почти 40 видов коронавируса известных в настоящее время, только 7 вирусов имеют медицинское значение. Анализ литературных источников таксономического положения, морфологических свойств, структуры разных видов коронавируса показал, что среди 7 видов коронавируса, имеющие медицинское значение следует выделить 2 группы коронавируса: группу особо опасных коронавируса человека (*SARS-CoV*, *MERS-CoV* и *SARS-CoV-2*); группу «банальных» коронавируса человека (*НСoV 229E*, *НСoV NL63*, *НСoV HKU1*, *НСoV OC43*). Обращает на себя внимание необходимость проведения мониторинговых исследований изучения биологического разнообразия коронавируса. Эти исследования должны включать изучение структур вирусной клетки у коронавируса, независимо от вида хозяев обитания и это позволит выявить те изменения в его структурах, влияющие на эволюционный дрейфовый процесс конкретного вида НСoV, что, вероятно, приводит к изменению места обитания с рукокрылых или птиц на человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВОЗ Международные медико-санитарные правила (2005г.) третье издание. Швейцария: Отдел печати ВОЗ. 2013.
2. Neuman B.W., Adair B.D., Yoshioka C., Quispe J.D., Kuhn G.O.P., Milligan R.A., Yeager M., Buchmeier M.J. Supramolecular architecture of severe

- acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *J. Virol.* 2006;80(16):7918–7928. doi: 10.1128/JVI.00645-06.
3. Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931;78:19.
 4. Almeida J.D., Berry D.M., Cunningham C.H., Hamre D., Hofstad M.S., Mallucci L., McIntosh K., Tyrrell D.A.J. Virology: Coronaviruses. *Nature.* 1968;220:650. doi: 10.1038/220650b0.
 5. Classification and nomenclature of viruses. First report of the International committee on nomenclature of viruses. Ed. Wildy P. Basel: Karger. 1971.
 6. Classification and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. Fenner F. Basel: Karger. 1976.
 7. Pringle C.R. Virus taxonomy 1996 - a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem. *Arch. Virol.* 1996;141(11):2251–2256. doi:10.1007/bf01718231.
 8. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae). *Инфекция и иммунитет.* 2020;10(2):221–246. doi:10.15789/2220-7619-HOI-1412.
 9. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.* 1965;1:1467–1470. doi: 10.1136/bmj.1.5448.1467.
 10. Hamre D., Procknow J.J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1966;121:190–193. doi:10.3181/00379727-121-30734.
 11. Bruckova M., McIntosh K., Kapikian A.Z., Chanock R.M. The adaptation of two human coronavirus strains (OC38 and OC43) to growth in cell monolayers. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970;135(2):431–435. doi:10.3181/00379727-135-35068.
 12. Callow K.A., Parry H.F., Sergeant M., Tyrrell D.A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol. Infect.* 1990;105:435–446. doi: 10.1017/s0950268800048019.
 13. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Crameri G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005;310:676–679. doi: 10.1126/science.1118391.
 14. Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром. *Архив патологии.* 2004;3:5–11.
 15. Van der Hoek L., Pyrc K., Jebbink M.F., Vermeulen-Oost W., Berkhout R.J., Wolthers K.C., Wertheim-van Dillen P.M., Kaandorp J., Spaargaren J., Berkhout B. Identification of a new human coronavirus. *Nat. Med.* 2004;10:368–373. doi:10.1038/nm1024.
 16. Fouchier R.A., Hartwig N.G., Bestebroer T.M., Niemeyer B., de Jong J.C., Simon J.H., Osterhaus A.D. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101:6212–6216. doi: 10.1073/pnas.0400762101.
 17. Lednicky J.A., Waltzek T.B., McGeehan E., Loeb J.C., Hamilton S.B., Luetke M.C. Isolation and genetic characterization of human coronavirus NL63 in primary human renal proximal tubular epithelial cells obtained from a commercial supplier, and confirmation of its replication in two different types of human primary kidney cells. *Virol. J.* 2013;10:213. doi: 10.1186/1743-422X-10-213.
 18. Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M., Chan K.H., Tsoi H.W., Huang Y., Wong B.H., Poon R.W., Cai J.J., Luk W.K., Poon L.L., Wong S.S., Guan Y., Peiris J.S., Yuen K.Y. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J. Virol.* 2005;79:884–895. doi: 10.1128/JVI.79.2.884-895.2005.
 19. Zaki A.M., Van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(19):1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.
 20. Ryu S., Chun B.C. An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus. *Epid. Health.* 2020 Feb 6;42:e2020006. doi:10.4178/epih.e2020006.
 21. Пресс К. Анатомия коронавируса. Что мы узнали о Covid-19 за полгода? BBC, Русская служба <https://www.bbc.com/russian/extra/VLxX2tAh3r/anatomy-of-a-pandemic-russian>.
 22. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020. 03 Feb; 579 (7798):265–269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
 23. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 2020;92(4):418–423. doi: 10.1002/jmv.25681.
 24. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 1 (21 January 2020). URL: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/>

situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-cov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4.

25. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report10 (30 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200130-sitrep-10-ncov.pdf?sfvrsn=d0b2e480_2.

26. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report11 (31 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf?sfvrsn=de7c0f7_4.

27. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report22 (11 February 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2.

28. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report51 (11 March 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10.

29. Park W.B., Kwon N.J., Choi S.J., Kang C.K., Choe P.G., Kim J.Y., Yun J., Lee G.W., Seong M.W., Kim N.J., Seo J.S., Oh M.D. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. *J. Korean Med. Sci.* 2020;35(7): e84. doi: 10.3346/jkms.2020.35.e84.

30. Wilson M.E., Chen L.H. Travelers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). *J. Travel. Med.*, 27 Mar, 2020;27(2): taaa015. doi:10.1093/jtm/taaa015.

31. Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА; 2008.

32. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. Elsevier Academic Press, 2005.

33. Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. академика РАН Д.К. Львова. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2013.

34. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015;60(2):94–98.

35. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности. *Лечащий врач.* 2013;10: 49–54.

36. Chuck C.P., Chow H.F., Wan D.C.C., Wong K.B. Profiling of substrate specificities of 3C-like proteases from group 1, 2a, 2b, and 3 coronaviruses. *PLoS One.* 2011;6(11): e27228–e27228. doi:10.1371/journal.pone.0027228.

37. Dijkman R., Jebbink M.F., Wilbrink B., Pyrc K., Zaaijer H.L., Minor P.D., Franklin S., Berkhout B., Thiel V., van der Hoek L. Human coronavirus 229E encodes a single ORF4 protein between the spike and the envelope genes. *Virol. J.* 2006;3:106. doi:10.1186/1743-422X-3-106.

38. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier Academic Press; 2011.

39. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lai K.K., Huang Y., Lee P., Luk G.S., Dyrting K.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus. *J. Virol.* 2009;83(2):908–917. doi: 10.1128/JVI.01977-08.

40. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier Academic Press; 2011;1338.

41. Ziebuhr J., Baric R.S., Baker S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A., Haagmans B.L., Neuman B.W., Perlman S., Poon L.L.M., Sola I., Gorbalenya A.E. Reorganization of the family Coronaviridae into two families, Coronaviridae (including the current subfamily Coronavirinae and the new subfamily Letovirinae) and the new family Tobnaviridae (accommodating the current subfamily Torovirinae and three other subfamilies), revision of the genus rank structure and introduction of a new subgenus rank. Proposal 2017.013S (08.08.2018) for International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://ictv.global/proposal/2017.Nidovirales/>.

42. Fung T.S., Liu D.X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annual Review of Microbiology.* 2019;73:529-557. doi:10.1146/annurev-micro-020518-115759

43. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) New MSL including all taxonomy updates since the 2018b release Updates approved during EC 51, Berlin, Germany, July 2019; Email ratification March 2020 (MSL #35) For more information see: <https://ictv.global>.

44. Маджидов Т.И., Куракин Г.Ф. Компьютерные технологии против коронавируса: первые результаты. *Природа.* 2020;3:3-15. doi:10.7868/S0032874X20030011.

45. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез. *Лечащий врач*. 2011;10:33–38.
46. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology*. Academic Press. 2015;452.
47. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Zaberezhny A.D., Soares D. Evolution of HPAI H5N1 virus in natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Dis*. 2010;54:483–495. doi: 10.1637/8893-042509-Review 1.
48. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение нвой инфекции (COVID-19). Версия 7. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 6 июня 2020.
49. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Петленко С.В. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ. — СПб.: Гиппократ; 2020.
50. Korsman S.N.J., Gert U. van Zyl, Nutt L., Andersson M.I., Preiser W. Human coronaviruses. *Virology*. 2012;94-95; doi:10.1016 / B978-0-443-07367-0.00040-9.
51. Corum J., Zimmer C. Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome. *The New York Times*. April 3.2020;(17).
52. Стасевич К. Жизнь и устройство коронавируса. *Наука и жизнь*. 2020;4:8-15. <https://www.nkj.ru/archive/articles/38461>.
53. Graham R.L., Baric R.S. Minireview Recombination, Reservoirs, and the Modular Spike: Mechanisms of Coronavirus Cross-Species Transmission. *Journal of Virology*. 7 Apr. 2010; 84(7):3134–3146. doi:10.1128/JVI.01394-09.
54. Masters PS, Kuo L, Ye R, Hurst K. R., Koetzner C.A., Hsue B. Genetic and molecular biological analysis of protein-protein interactions in coronavirus assembly. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2006;581:163-173. doi:10.1007 / 978-0-387-33012-9_29.
55. Siu Y.L., Teoh K.T., Lo J., Kien C., F., Escriou N., Tsao S. W., Nicholls J. M., Altmeyer R., J Peiris. S. M., Bruzzone R., Nal B. The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles. *J. Virol*. 2008; 82:11318 doi: 10.1128/JVI.01052-08.
56. McIntosh K, Peiris JSM. Coronaviruses. In: *Clinical Virology*, 3rd ed., Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG (Eds), ASM Press, Washington, DC 2009:1155.
57. Peiris J.S.M. Section II. The Agents. Part B: RNA Viruses. Coronavirus. In the book: Richman D.D., Whitley R.J., Hayden F.G., - editors. 4rd ed., *Clinical virology*. Washington, ASM Press, 2017;1243-1265.
58. Enjuanes L., Smerdou C., Castilla J., Antón I. M., Torres J. M., Sola I., Golvano J., Sánchez J. M., Pintado B. Development of protection against coronavirus induced diseases. A review. *Adv Exp Med Biol*. 1995; 380:197-211. doi: 10.1007/978-1-4615-1899-0_34.
59. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A. H. David Bhella, M Fazil Baksh, Stephen Connelly, Ben Droese, Joseph P Klaus, Shinji Makino, Stanley G Sawicki, Stuart G Siddell, Dimitrios G Stamou, Ian A Wilson, Peter Kuhn, Michael J Buchmeier et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology *J. struct. Biol*. 2011;174(1):11–22. doi: 10.1016/j.jsb.2010.11.021.

REFERENCES

- World Health Organization International Health regulations (2005) third edition. Switzerland. WHO Press. 2013.
- Neuman B.W., Adair B.D., Yoshioka C., Quispe J.D., Kuhn G.O.P., Milligan R.A., Yeager M., Buchmeier M.J. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *J. Virol*. 2006;80(16):7918–7928. doi:10.1128/JVI.00645-06.
- Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 1931;78:19.
- Almeida J.D., Berry D.M., Cunningham C.H., Hamre D., Hofstad M.S., Mallucci L., McIntosh K., Tyrrell D.A.J. *Virology: Coronaviruses*. Nature. 1968;220:650. doi: 10.1038/220650b0.
- Classification and nomenclature of viruses. First report of the International committee on nomenclature of viruses. Ed. Wildy P. Basel: Karger. 1971.
- Classification and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. Fenner F. Basel: Karger. 1976; 115.
- Pringle C.R. *Virus taxonomy 1996 - a bulletin from the Xth International Congress of Virology in Jerusalem*. Arch. Virol. 1996;141(11):2251–2256. doi:10.1007/bf01718231.
- Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. Study history and current classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae) *Infection and immunity*. 2020;10(2):221–246. doi:10.15789/2220-7619-HOI-1412.
- Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures.

- Br. Med. J. 1965;1:1467–1470. doi:10.1136/bmj.1.5448.1467.
10. Hamre D., Procknow J.J. A new virus isolated from the human respiratory tract. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1966;121:190–193. doi:10.3181/00379727-121-30734.
11. Bruckova M., McIntosh K., Kapikian A.Z., Chanock R.M. The adaptation of two human coronavirus strains (OC38 and OC43) to growth in cell monolayers. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1970;135(2):431–435. doi: 10.3181/00379727-135-35068.
12. Callow K.A., Parry H.F., Sergeant M., Tyrrell D.A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. Epidemiol. Infect. 1990;105:435–446. doi: 10.1017/s0950268800048019.
13. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Cramer G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. Science. 2005;310:676–679. doi: 10.1126/science.1118391.
14. Chuchalin A.G. Severe acute respiratory syndrome. Pathology Archive. 2004;3:5–11.
15. Van der Hoek L., Pyrc K., Jebbink M.F., Vermeulen-Oost W., Berkhout R.J., Wolthers K.C., Wertheim-van Dillen P.M., Kaandorp J., Spaargaren J., Berkhout B. Identification of a new human coronavirus. Nat. Med. 2004;10:368–373. doi:10.1038/nm1024.
16. Fouchier R.A., Hartwig N.G., Bestebroer T.M., Niemeyer B., de Jong J.C., Simon J.H., Osterhaus A.D. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004;101:6212–6216. doi:10.1073/pnas.0400762101.
17. Lednicky J.A., Waltzek T.B., McGeehan E., Loeb J.C., Hamilton S.B., Luetke M.C. Isolation and genetic characterization of human coronavirus NL63 in primary human renal proximal tubular epithelial cells obtained from a commercial supplier, and confirmation of its replication in two different types of human primary kidney cells. Virol. J. 2013;10:213. doi: 10.1186/1743-422X-10-213.
18. Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M., Chan K.H., Tsoi H.W., Huang Y., Wong B.H., Poon R.W., Cai J.J., Luk W.K., Poon L.L., Wong S.S., Guan Y., Peiris J.S., Yuen K.Y. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. J. Virol. 2005;79:884–895. doi: 10.1128/JVI.79.2.884-895.2005.
19. Zaki A.M., Van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N. Engl. J. Med. 2012;367(19):1814–1820. doi: 10.1056/NEJMoa1211721.
20. Ryu S., Chun B.C. An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus. Epid. Health. 2020 Feb 6;42:e2020006. doi:10.4178/epih.e2020006.
21. Press K. Anatomy of the coronavirus. What have we learned about Covid-19 in six months? BBC, Russian Service [https://www.bbc.com/russian/extra/VLvX2tAh3r/anatomy-of-pandemic\(russian\)](https://www.bbc.com/russian/extra/VLvX2tAh3r/anatomy-of-pandemic(russian)).
22. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020. 03 Feb; 579 (7798):265–269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.
23. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J. Med. Virol. 2020;92(4):418–423. doi:10.1002/jmv.25681.
24. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 1 (21 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-cov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4.
25. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 10 (30 January 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200130-sitrep-10-ncov.pdf?sfvrsn=d0b2e480_2.
26. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report - 11 (31 January 2020). https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf?sfvrsn=de7c0f7_4
27. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 22 (11 February 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2.
28. World Health Organization. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Situation Report 51 (11 March 2020). URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10
29. Park W.B., Kwon N.J., Choi S.J., Kang C.K., Choe P.G., Kim J.Y., Yun J., Lee G.W., Seong M.W., Kim N.J., Seo J.S., Oh M.D. Virus isolation from the first patient with SARS-CoV-2 in Korea. J. Korean Med. Sci. 2020;35(7): e84. doi:10.3346/jkms.2020.35.e84.

30. Wilson M.E., Chen L.H. Travelers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). *J. Travel Med.*, 27 Mar 2020;27(2): taaa015. doi:10.1093/jtm/taaa015.
31. *Medical virology*. Ed. D.K. Lviv M.: MIA; 2008.
32. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Eds. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. Elsevier Academic Press, 2005.
33. *Guide to Virology: Viruses and viral infections of humans and animals*. Undered. Academician of RAS D.K. Lviv M.: Publishing House Medical Information Agency LLC; 2013.
34. Shchelkanov M.Yu., Ananyev V.Yu., Kuznetsov VV, Shumatov VB Middle Eastern respiratory syndrome: when does the smoldering focus break out? / *Pacific Medical Journal*. 2015;60(2):94–98.
35. Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human Coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic danger. *Attending doctor*. 2013; 10: S. 49–54.
36. Chuck C.P., Chow H.F., Wan D.C.C., Wong K.B. Profiling of substrate specificities of 3C-like proteases from group 1, 2a, 2b, and 3 coronaviruses. *PLoS One*. 2011;6(11): e27228–e27228. doi:10.1371/journal.pone.0027228.
37. Dijkman R., Jebbink M.F., Wilbrink B., Pyrc K., Zaaijer H.L., Minor P.D., Franklin S., Berkhout B., Thiel V., van der Hoek L. Human coronavirus 229E encodes a single ORF4 protein between the spike and the envelope genes. *Viol. J*. 2006;3:106. doi:10.1186/1743-422X-3-106.
38. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier Academic Press; 2011.
39. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lai K.K., Huang Y., Lee P., Luk G.S., Dyrting K.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus. *J. Virol*. 2009;83(2):908–917. doi: 10.1128/JVI.01977-08.
40. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Eds. King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Elsevier Academic Press; 2011.
41. Ziebuhr J., Baric R.S., Baker S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A., Haagmans B.L., Neuman B.W., Perlman S., Poon L.L.M., Sola I., Gorbalenya A.E. Reorganization of the family Coronaviridae into two families, Coronaviridae (including the current subfamily Coronavirinae and the new subfamily Letovirinae) and the new family Tobaniviridae (accommodating the current subfamily Torovirinae and three other subfamilies), revision of the genus rank structure and introduction of a new subgenus rank. Proposal 2017.013S (08.08.2018) for International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://ictv.global/proposal/2017.Nidovirales/>.
42. Fung T.S., Liu D.X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Infection. *Annual Review of Microbiology*. 2019;73:529-557. doi:10.1146/annurev-micro-020518-115759
43. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) New MSL including all taxonomy updates since the 2018b release Updates approved during EC 51, Berlin, Germany, July 2019; Email ratification March 2020 (MSL #35) For more information see: <https://ictv.global>.
44. Majidov T.I., Kurakin G.F. Computer technology against coronavirus: first results. *Nature*. 2020; 3: 3-15. doi:10.7868 / S0032874X20030011.
45. Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinic, pathogenesis. *The attending physician*. 2011;10:33–38.
46. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology*. Academic Press. 2015.
47. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovskiy S.V., Zaberezhny A.D., Soares D. Evolution of HPAI H5N1 virus in natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Dis*. 2010;54:483–495. doi: 10.1637/8893-042509-Review.1.
48. Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of your infection (COVID-19). Version 7. Ministry of Health of the Russian Federation. June 6, 2020; 166.
49. Smirnov V.S., Zarubaev V.V., Petlenko S.V. Pathology biology and control of influenza and SARS. - St. Petersburg: Hippocrates; 2020; 336.
50. Korsman S.N.J., Gert U. van Zyl, Nutt L., Andersson M.I., Preiser W. Human coronaviruses. *Virology*. 2012;94-95; doi:10.1016 / B978-0-443-07367-0.00040-9.
51. Corum J., Zimmer C. Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome. *The New York Times*. April 3.2020,(17).
52. Stasevich K. Life and device of coronaviruses *Science and life*. 2020;4:8-15. <https://www.nkj.ru/archive/articles/38461>.
53. Graham R.L., Baric R.S. Minireview Recombination, Reservoirs, and the Modular Spike: Mechanisms of Coronavirus Cross-Species

Transmission. *Journal of Virology*. 7 Apr. 2010; 84(7):3134–3146. doi:10.1128/JVI.01394-09.

54. Masters PS, Kuo L, Ye R, Hurst K. R., Koetzner C.A., Hsue B. Genetic and molecular biological analysis of protein-protein interactions in coronavirus assembly. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2006;581:163-173. doi:10.1007/978-0-387-33012-9_29.

55. Siu Y.L., Teoh K.T., Lo J., Kien C., F., Escriou N., Tsao S. W., Nicholls J. M., Altmeyer R., J Peiris. S. M., Bruzzone R., Nal B. The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles. *J. Virol.* 2008; 82:11318. doi:10.1128/JVI.01052-08.

56. McIntosh K, Peiris JSM. Coronaviruses. In: *Clinical Virology*, 3rd ed., Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG (Eds), ASM Press, Washington, DC 2009:1155.

57. Peiris J.S.M. Section II. The Agents. Part B: RNA Viruses. Coronavirus. In the book: Richman D.D., Whitley R.J., Hayden F.G., - editors. 4rd ed., *Clinical virology*. Washington, ASM Press, 2017;1243-1265.

58. Enjuanes L., Smerdou C., Castilla J., Antón I. M., Torres J. M., Sola I., Golvano J., Sánchez J. M., Pintado B. Development of protection against coronavirus induced diseases. A review. *Adv Exp Med Biol.* 1995;380:197-211. doi:10.1007/978-1-4615-1899-0_34.

59. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A. H. David Bhella, M Fazil Baksh, Stephen Connelly, Ben Droese, Joseph P Klaus, Shinji Makino, Stanley G Sawicki, Stuart G Siddell, Dimitrios G Stamou, Ian A Wilson, Peter Kuhn, Michael J Buchmeier et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology *J. struct. Biol.* 2011; 174, (1): 11–22. doi: 10.1016/j.jsb.2010.11.021.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

МАТЕРИАЛЫ
ПЕРВОГО КРЫМСКОГО ОНЛАЙН-ФОРУМА
«ОНКОЛОГИЯ, ПАТОМОРФОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ:
ОТ ТЕОРИИ К ПРАКТИКЕ»

при поддержке
Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) (грант 20-015-22002)

7-8 октября 2020 г.
г. Симферополь

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ТРЕХМЕРНЫХ КЛАСТЕРОВ МУТАЦИЙ В БЕЛКЕ PTEN

Андрианов Г. В.¹, Павлов В. А.¹, Абрамова З. И.¹, Серебрянский И. Г.¹

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, 420008, Казань, Россия

Введение. Гомолог фосфатазы и тензина (PTEN) является биспецифической фосфатазой, который способен взаимодействовать как с белками, так и с липидами. Также этот белок является опухолевым супрессором, подавляя развитие клеточного роста и выживания через сигнальный путь PI3K/AKT. Было показано, что PTEN имеет высокую чувствительность к мутациям, которая ведет к потере основной функции. В свою очередь это приводит к активации выживания, роста и пролиферации злокачественных клеток и в конечном итоге к развитию различных раковых заболеваний. Большинство работ, посвященных исследованию мутационного профиля PTEN, имеют достаточно маленькую выборку, что не позволяет достоверно отделить истинные мутации, которые приводят к онкогенезу (драйверы) от биологически нейтральных (пассажиры). Кроме того, это затрудняет идентификацию мутационных “хотспотов”, т.е. позиций, которые мутируют с высокой вероят-

ностью, которые в свою очередь могут быть использованы для разработки персонализированного лечения.

Цель. В данной работе мы стремились определить трехмерные хотспоты, используя кластеры пространственно-близких аминокислотных остатков в кристаллических структурах PTEN, которые максимально близки к нативной конформации белка. Если некоторый кластер проявляет заметно большую склонность к мутациям по сравнению со случайным распределением, то все аминокислоты в данном кластере были расценены как трехмерные хотспоты.

Выводы. Таким образом, нами было определено два новых хотспота, один из которых находится около аминокислоты Pe135N-концевом фосфотазном домене, который ответственен за противоопухолевую активность, а другой – около Pe235в домене C2, который связан со стабильностью всей структуры PTEN и креплением в фосфолипидной мембране.

КАНЦЕР-АССОЦИИРУЕМЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ В ИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА

Безуглова Т. В.¹, Мнихович М. В.^{1,2}, Черников В. П.¹, Снегур С. В.⁴, Павлова Ю. Г.^{4,5},

Куш Д. С.², Малюгин Н. Г.², Романов А. В.², Васин И. В.^{4,5}, Камаль Халави Скафи³

¹ФГБНУ «НИИ морфологии человека»

²РНМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

³Медицинский центр Клалит, Иерусалим, Израиль

⁴Рязанская Областная Клиническая Больница

⁵Рязанский Государственный Медицинский Университет им. И.П. Павлов

Введение: Раково-ассоциированные фибробласты (Cancer associated fibroblasts, CAF) являются одним из ключевых компонентов стромы практически любой опухоли (исключением являются опухоли крови) (Leilei T., et al., 2017). Канцер-ассоциируемые фибробласты – это активированные фибробласты, имеющие свое представительство в микроокружении опухоли. Они являются одним из наиболее заметных типов клеток в строме опухоли и производят большое количество молекул внеклеточного матрикса, хемокинов, цитокинов и факторов роста.

В карциномах они играют важную роль в опухолевой прогрессии. Опухолевые клетки тесно взаимодействуют со своим микроокружением (стромой), которое включает в себя раково-ассоциированные фибробласты, иммунные клетки, эндотелиальные клетки/перicytes и компоненты внеклеточного матрикса. (Mei Q.K., et al., 2019; Monteran et al., 2019). Все они способствуют росту опухолевых клеток и осуществляют иммуносупрессивную и проангиогенную функцию, а также индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход (EMT). CAF способствуют прогрессированию рака и метастазированию. Это, вместе с их генетической стабильностью, делает их интересной мишенью для лечения рака.

Описаны 6 типов CAF: связанные с экспрессией α -гладкомышечного актина (α -SMA), подопланина, гиалуроната, фибробласт активирован-

ного протеина (FAP), белка S100 и тромбоцитарного фактора роста (PDGF).

Цель исследования: Изучить гетерогенность раково-ассоциированных фибробластов в инвазивном раке молочной железы неспецифического типа (invasive carcinoma of no special type, ICNST).

Материалы и методы: Нами изучено 82 случая ICNST с использованием рутинных методов окрашивания, а также методов иммуногистохимического и гистохимического исследования с применением панели антител (панцитокератина AE1/AE3, цитокератина 18 (CK18), E-кадгерина, виментина, подопланина, α -SMA, CD44), альцианового синего (рН 2,5-2,7) и PAS – реакции.

Результаты: В инвазивном раке молочной железы неспецифического типа (ICNST) нами выявлены 3 разновидности CAF: связанные с α -гладкомышечным актином (α -SMA), подопланином, CD44 и гиалуронатом. Экспрессия всех 4-х маркеров была максимально выражена в зонах инвазивного роста (зона эпителиально-мезенхимального перехода, EMT), однако практически отсутствовала в паренхиме опухоли и в ее центральной части.

Выводы: Положительная экспрессия гиалуроната и CD44 в CAF свидетельствует о принадлежности их к мезенхимальным стволовым клеткам. Иммуногистохимически CAF определялись во всех случаях эпителиально-мезенхимальной трансформации (EMT), что дает нам право предполагать, что они стимулируют EMT.

ЗНАЧЕНИЕ ПОТЕРИ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ MLN1 В СИДЯЧИХ ЗУБЧАТЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ТОЛСТОЙ КИШКИ И ЧЕРВЕОБРАЗНОГО ОТРОСТКА

Вандышева Р. А.¹, Михалева Л. М.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия

²ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», Москва, Россия

Введение. В настоящее время работа врача-патологоанатома по изучению колоректальных раков и предраковых образований - зубчатых поражений (ЗП) толстой кишки - включает обязательный иммуногистохимический анализ (ИГХ) экспрессии белков, отвечающих за репарацию неспаренных оснований ДНК, таких как MLN1, MSH2, MSH6 и PMS2 (Kheirelsaid E. A. H. et al, 2013). Так при нарушении в генах, кодирующих данные белки, возникает феномен микросателлитной нестабильности (МСН), который характеризует быструю прогрессию ЗП в стадию дисплазии высокой степени и развитие рака. До 74,5% сидячих зубчатых поражений (СЗП) с дисплазией имеют MSI-H, это наиболее характерно для женщин и пациентов старшей возрастной группы (Bettington M. et al., 2017). С точки зрения патоморфологического исследования наибольшее значение имеет маркер MLN1, потеря экспрессии которого в СЗП указывает на наличие участков дисплазии, не определяемых при окрашивании рутинным методом гематоксилином и эозином (Pai R. K. et al, 2019).

Цель исследования. Выявление экспрессии маркера MLN1 в СЗП без дисплазии, с дисплазией низкой (СЗПДН) и высокой степени (СЗПДВ), и в зубчатых карциномах (ЗК) толстой кишки (ТК) и червеобразного отростка (ЧО).

Материалы и методы. Был исследован биопсийный и операционный материал с 2014 по 2020 гг., из них СЗП — 201, гиперпластические полипы (ГП) — 238, традиционные зубчатые аденомы (ТЗА) — 42, полученный во время колоноскопии с биопсией или после полипэктомии от 481 пациента в возрасте от 29 до 87 лет (средний возраст составил 59,6 лет). Каждый случай был окрашен ГИЭ, а также реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим по стандартной методике. Для определения мутаций генов KRAS и BRAF использовался метод ПЦР в режиме реального времени (ПЦР РВ), аналитическая панель включала мутации 2,3,4 экзона гена KRAS и мутацию гена BRAFp. V600E (с.1799T>A). Для этого было отобрано

60 наблюдений ЗП толстой кишки, среди них СЗП — 25, ГП — 18, ТЗА — 17. Далее 28 случаев ЗП (18 СЗП, 5 – ТЗА, 5 – ГП) были выделены для исследования наличия МСН с помощью ИГХ диагностики с панелью антител к MSH2, MLN1, PMS2 и MSH6 с обязательным контролем. Появление МСН расценивалось при отсутствии экспрессии в эпителиальных клетках в 3-х и более смежных крипах. В данной работе мы хотим отобразить значимость маркера MLN1 в СЗП.

Результаты. Из 18 случаев СЗП ТК и ЧО в 44,4% (8 наблюдений) не были обнаружены диспластические изменения, в 33,3% (6 наблюдений) была выявлена дисплазия низкой степени и в 16,7% (3 наблюдения) - высокой степени, в 5,6% (1 наблюдение) была диагностирована ЗК на фоне СЗПДВ. Средний возраст пациентов с дисплазией разной степени составил 62,6 лет (от 39 до 73 лет), при этом большинство пациентов (70 %) были мужского пола. Половина случаев располагалась в правом отделе толстой кишки с преобладанием в восходящей части (40 %), и в 20 % - в ЧО. При проведении генетического исследования в 33,3% (7 наблюдений) выявлены мутации – гена BRAFp. V600E в 2 – СЗП ТК, 1 – СЗП ЧО, 2 – СЗПДН, 1 – СЗПДВ, 1 – ЗКТК, в 5,6 % мутация гена KRAS p.G12V в 1 наблюдении СЗПДН ЧО. В ходе ИГХ исследования значимая потеря экспрессии белка MLN1 была выявлена только в 22,2% из 18, из них в 25% СЗП ТК без дисплазии, в 75% - в СЗПДВ ТК и ЗК ТК. Все случаи характеризовались наличием мутации гена BRAFp. V600E.

Вывод. Таким образом, в нашем исследовании был выявлен единственный случай с обнаруженной дисплазией при рутинном исследовании срезов, окрашенных гематоксилином и эозином. Этот случай также показал наличие мутации гена BRAFp. V600E., который в сочетании с потерей MLN1 характеризуется плохим прогнозом. Поэтому мы рекомендуем проводить в любых ЗП ТК, особенно в СЗП, ИГХ исследование с маркером MLN1.

ДЕРЕПРЕССИЯ LINE-1 РЕСВЕРАТРОЛОМ, КУРКУМИНОМ, НАРИНГЕНИНОМ И ДЕЛЬФИНИДИНОМ

Власова О. А.¹, Чернова И. А.¹, Борунова А. А.¹, Заботина Т. Н.¹, Лесовая Е. А.^{1,2}, Белицкий Г. А.¹, Кирсанов К. И.^{1,3}, Якубовская М. Г.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

Введение. Одним из важнейших механизмов реализации антиканцерогенного и противовирусного эффектов, показанных для ряда природных полифенолов, является регуляция сигнального пути интерферона- α . Для исследуемых соединений данной группы, а именно, ресвератрола, куркумина, нарингенина и дельфинидина, ранее нами было показано как их влияние на экспрессию таргетных генов сигнального пути интерферона- α , так и их непосредственное взаимодействие с ДНК без образования ковалентных связей, которое может оказывать влияние на процессы компактизации ДНК и трехмерную организацию эукариотического генома. Поскольку одним из наиболее вероятных механизмов индукции интерферонового сигналинга растительными полифенолами нам представляется активация экспрессии транспозонов, вызываемая вытеснением гистона H1 из хроматина, мы проанализировали эффекты полифенолов на экспрессию репрессированных в норме последовательностей LINE-1.

Материалы и методы. Специфическая транскрипция LINE-1 оценивалась для трех различных ампликонов данной последовательности (A,B,C), а так же гена ORF1 LINE1 при проведении ПЦР в реальном времени. Клетки HeLa были обработаны соединениями интереса в максимально нетоксичных концентрациях в течение 24 часов. Выделение РНК из клеток и обратная транскрипция проводились стандартными методами. Альтернативным методом оценки активации экспрессии LINE1 послужило иммунофлюоресцентное окрашивание клеток HeLa (антителами к ORF1 LINE1 и H2Aхгамма, являющиеся маркером двунитевых разрывов, которые появляются при активации экспрессии LINE1) с последующим анализом распределений популяций обработанных и контрольных клеток с помощью проточной цитофлуориметрии.

Результаты. В исследовании влияния природных полифенолов на активацию транспонируемых последовательностей LINE1 наиболее показательные результаты были получены для дельфинидина, который увеличивал экспрессию трехампликонов (A,B,C) LINE1 в 4,2; 3,4; 3,2 раза соответственно, увеличивал экспрессию гена ORF1 LINE1 в 4,4 раза. Для ресвератрола, куркумина и нарингенина экспрессия ампликонов LINE1 увеличивалась в среднем в 1,7; 1,4; 1,9 раз соответственно, а экспрессия ORF1 в 1,5; 1,9 и 2,2 раза соответственно. Увеличение экспрессии является статистически значимым, $p < 0,05$. Полученные данные были подтверждены статистически значимым увеличением средней интенсивности флюоресценции (GFP- ORF1, mCherry- H2Aхгамма) распределения популяции обработанных клеток по отношению к распределению популяции необработанных клеток и увеличением процентного содержания клеток с повышенным уровнем экспрессии флюоресценции по двум каналам.

Обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о возможности существования ДНК-зависимого механизма реализации противоопухолевого действия растительных полифенолов, за счет активации репрессированных участков генома, в частности последовательностей LINE1 и дальнейшего запуска сигнального пути интерферона- α . Дерепрессия ранее неактивных участков может быть вызвана как непосредственным изменением пространственных, физико-химических и структурных характеристик ДНК в присутствии ДНК-тропных малых молекул и, следовательно, их влиянием на структуру хроматина, так и опосредовано, через влияние на эпигенетические регуляторы различных групп, а так же за счет изменения функционирования белков метаболизма ДНК.

Исследование поддержано Российским научным фондом (17-15-015260).

УРОВЕНЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФРАГМЕНТОВ IGG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гоуфман Е. И., Тихонова Н. Б., Болтовская М. Н., Яковлев В. Н.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»

Введение. Стратификация больных раком простаты (РПЖ) на группы риска во время первоначальной диагностики, позволяющая выбрать те или иные лечебные подходы, по-прежнему является основной клинической проблемой. Существующие в настоящее время онкомаркеры не позволяют с большой степенью определенности выбрать дальнейшую стратегию лечебных мероприятий. Степень злокачественности опухоли связана с активностью протеолитических ферментов, среди которых важную роль играют сериновые протеазы. Поскольку эта активность проявляется в самой опухоли, инфильтрированной иммуноглобулинами, уровень протеолиза одного из мажорных белков сыворотки в области опухоли может отражать степень этой активности. В качестве детектора уровня протеолиза была предложена тяжёлая цепь плазминогена. Это основано на том, что сериновые протеазы обычно расщепляют пептидные связи между положительно заряженными аминокислотами лизином и аргинином, а также сложными эфирами и амидами этих аминокислот. После расщепления сериновыми протеазами иммуноглобулинов, их фрагменты специфически взаимодействуют с тяжёлой цепью плазминогена, благодаря присутствию С-концевого лизина. Тяжёлая цепь PLG содержит сайты связывания лизина, которые могут связываться с протеолитически расщепленным IgG или его фрагментами, которые содержат свободный С-концевой лизин. Ранее нами были продемонстрированы повышенные уровни протеолитически расщепленных IgG, способных связываться с тяжёлой цепью PLG в плазме пациентов с раком предстательной железы по сравнению с доброкачественной гиперплазией и здоровыми донорами (Гоуфман и соавт., 2018).

Целью работы стало изучение зависимости показателя уровня протеолитических фрагментов IgG в сыворотке крови больных от уровня показателей PA, ENO, PSMA, Ki67 и IgG в биоптатах опухоли простаты этих же больных.

Материалы и методы. Пробы крови были взяты у 102 первичных больных до операции. Диагноз был поставлен на основании осмотра урологом, трансректального ультразвукового исследования. У всех больных уровень общего простатспецифического антигена tPSA был

больше 4. В дальнейшем у пациентов была проведена тотальная простатэктомия, и диагноз был подтверждён при гистологическом исследовании. Иммуногистохимическое (ИГХ) выявление uPA, ENO, PSMA, Ki67 и иммуноглобулина G выполняли на участках биопсии от пациентов с аденокарциномой на стадиях от T1c и до T4v. При этом сравнивались типичные для каждой группы участки. В работе использовали специфические антитела фирмы Abcam. Исследуемые маркеры отражают активность сериновых протеаз в опухоли, в частности плазмина (uPA, ENO), а также степень активного роста (PSMA, Ki67). Степень ИГХ окрашивания оценивалась в баллах. Низкая степень – 1 балл, умеренная – 2 балла и высокая – 3 балла.

Результаты и обсуждение. Существует связь между ИГХ активностью изучаемых нами маркеров в биопсиях больных с показателем по шкале Глисона. Чем выше Глисон, тем интенсивнее окраска, за исключением ENO и частично иммуноглобулинов. Однако корреляции между показателями уровня протеолитических фрагментов IgG в сыворотке крови и значением суммы Глисона выявлено не было. Это относилось и к биопсиям, взятым у больных с низким уровнем протеолитических фрагментов IgG в сыворотке крови. Возможное объяснение этому – недостаточность выборки биопсий, взятых для ИГХ исследования, у всех групп. Корреляции между интенсивностью нашего теста и стадиями заболевания мы также не выявили. При этом только 14% выборки показали низкий уровень фрагментов IgG в сыворотке. Нужно отметить, что практически все низкие значения сывороточного показателя наблюдались у больных на поздней стадии заболевания, при этом интенсивность окрашивания иммуноглобулинов в ИГХ исследовании биоптатов во всех группах не менялась. Полученные высокие значения сывороточного показателя могут отражать активную фазу роста опухоли, а не его финальную стадию. Как было сказано выше, существующие в настоящее время сывороточные онкомаркеры обладают недостаточной специфичностью. Так повышение уровня tPSA может отражать наличие раковых клеток, но также может быть связано с незлокачественными нарушениями. При значениях tPSA между 4,0 и 10,0 нг/мл рак предстательной железы подтверждается

только у 22–27% пациентов, в то время как у пациентов с концентрацией выше 10 нг/мл рак выявляют в 67%. Диагностика поздних стадий рака предстательной железы не вызывает больших затруднений, в то время как наибольшие трудности бывают при определении стратегии лече-

ния, когда уровень tPSA находится в серой зоне. Результаты предлагаемого нами теста вместе с показателями tPSA могли бы дать существенно больше информации для решения этого вопроса, а также для понимания необходимости биопсии у этих больных.

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ МЫШЕЧНО-НЕИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ (ОДИНОЧНЫХ И МНОЖЕСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ): ВЛИЯНИЕ ЧИСЛА ОБРАЗОВАНИЙ И ИХ РАЗМЕРОВ НА ПРОГНОЗ И РЕЦИДИВ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Гусниев М. А.¹, Пшихачев А. М.², Михалева Л. М.¹, Печникова В. В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека»; г. Москва, Россия.

²МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова; г. Москва, Россия.

Введение. Заболеваемость раком мочевого пузыря составляет от 3 до 7% от всех случаев злокачественных новообразований. Ежегодно раком мочевого пузыря в мире заболевают около 275 тысяч человек, причем чаще мужчины, чем женщины (соотношение - 3:1) (Kamat A.M., et al., 2017). В клинической практике ведущими проявлениями рака мочевого пузыря является макро- или микрогематурия (Anastasiadis A., et al., 2012). Несмотря на совершенствование диагностики и контроля за послеоперационным течением заболевания у больных раком мочевого пузыря, ведущим и наиболее значимым методом диагностики остается патоморфологический метод исследования биопсийного/операционного материала мочевого пузыря.

Использование глубины инвазии опухоли в качестве фактора прогноза исхода заболевания было впервые предложено Н. J. Jewett и G. H. Strong в 1988 году (Jewett H. J., Strong G. H., 1946).

Главным критерием глубины поражения уротелиального рака является оценка состояния мышечного слоя мочевого пузыря, свидетельствующая о степени инвазии опухоли. Мышечно-неинвазивным считается рак, распространяющийся в пределах слизистой оболочки и не прорастающий в мышечный слой стенки мочевого пузыря. При врастании опухоли в мышечный слой рак является мышечно-инвазивным.

Цель исследования: выявить корреляцию между рецидивным и безрецидивным течением рака мочевого пузыря в зависимости от размеров опухоли и зависимости от одиночных и множественных опухолевых очагов.

Пациенты и методы: Нами был проведен анализ течения заболевания после проведенного комбинированного лечения, в течение периодов 1 года и 5 лет. В исследование вошли 50 пациентов (средний возраст пациентов составил 50 - 60 лет), которые были разделены на две группы в зависимости от возникновения рецидива заболевания. Внутри каждой группы исследовалась

фокусность (одиночное или множественное) и размер опухолевого поражения (до 2 мм и более 2 мм). На основании данных цистоскопии было оценено число фокусов неопластического процесса и их размер. Всем пациентам была выполнена ТУР - биопсия данных образований, с последующим патоморфологическим исследованием биопсированных фрагментов по стандартной методике. Дополнительным методом исследования для уточнения клинически важных молекулярных параметров опухоли являлось иммуногистохимическое исследование.

Результаты исследования: В группу пациентов с рецидивным течением рака мочевого пузыря вошли 30 человек (6 женщин и 24 мужчины). Средний возраст составил 50-60 лет. У большинства пациентов данной группы опухолевое поражение было одиночным и размером более 5 мм. Вдругую группу вошли 20 человек (8 женщин и 12 мужчин), у большинства из них было два и более фокусов неопластического процесса, однако размер образований не превышал 2 мм.

Выводы: Группа пациентов с мышечно-неинвазивным раком мочевого пузыря с одиночным образованием, размером более 2 мм имела рецидивное течение в течение первых трёх лет активного наблюдения, после выполнения ТУР мочевого пузыря с опухолью и последующей химиотерапией митомицином С. Группа пациентов с множественными мелкими фокусами, наоборот, в первые три года активного наблюдения рецидивов не давала. Таким образом, можно сделать вывод, что одиночные образования мочевого пузыря, размером более 2 мм являются фактором риска рецидивного течения рака мочевого пузыря.

Полученные данные позволяют дать рекомендации по прогнозу рецидива неопластического процесса после одного и пяти лет активного наблюдения и позволяют оптимизировать динамическое наблюдение после проведенного лечения.

ИНТРАТУМОРАЛЬНОЕ КЛЕТОЧНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ ПРИ ИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ерофеева Л. М., Мнихович М. В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Россия

Цель исследования: изучить лимфоидные клеточные образования в молочной железе при инвазивном раке неспецифического типа различных биологических подтипов.

Методы исследования. Исследование проводили на операционном материале 18 пациентов с морфологически верифицированным инвазивным раком молочной железы T1-4N+M0, в возрасте от 35 лет до 81 года. Всем пациенткам выполнено хирургическое вмешательство. Неoadъювантная терапия не проводилась. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Экспрессию эстрогеновых (ЭР) и прогестероновых рецепторов (ПР), индекс пролиферативной активности и Her2/neu-статус определяли иммуногистохимическим методом (ИГХ). Исследование проводили с использованием антител к ЭР (SP1, Roche-Ventana), ПР PgR (1E2, Roche-Ventana), к онкопротеину Her2 (Her2/neu Pathway 4B5 Roche-Ventana), к Ki-67 (Ki67 30-9, Roche-Ventana). Постановка реакции сопровождалась позитивным и негативным контролем. Оценку экспрессии ЭР и ПР в опухолевой ткани осуществляли полуколичественным методом по D.C. Allred в баллах (Allred Score). Опухоли со значением от 0 до 2 баллов расценивали как гормонально-негативные, от 3 до 8 баллов - как гормонально-позитивные. Подсчет Ki-67 осуществляли визуальным методом в 10 полях зрения при увеличении микроскопа $\times 400$. Индекс пролиферативной активности определяли как процент окрашенных клеточных ядер в опухолевой паренхиме. HER2/neu статус оценивали согласно рекомендациям ASCO/CAP Guideline for HER2 Testing in Breast Cancer. Лимфоидное микроокружение изучали под микроскопом Leica DM2500 при увеличении $\times 900$ (масляная иммерсия). С помощью 25-узловой морфометрической сетки, встроенной в окуляр $\times 10$, подсчитывали общее содержание клеток на единице среза 1 мм² и определяли абсолютное и относительное содержание (в %) различных клеточных популяций. Вариационно-статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0. Статистическую значимость различий определяли по критерию Манна-Уитни.

Полученные результаты. По данным ИГХ исследования иммунофенотип опухоли соот-

ветствовал молекулярному классу Luminal B (LUMB). ИГХ-окрашивание показало в клетках опухоли положительную реакцию к ER- и PgR-рецепторам и высокую пролиферативную активность по белку Ki67 (40%). В строме опухоли обнаруживаются плотные инфильтраты, окружающие опухолевые клетки в виде валиков. В междольковой соединительной ткани отмечается выраженный фиброз, выявляются диффузные лейкоцитарные инфильтраты и лимфоидные узелки. Интраутуморальные клеточные инфильтраты более чем на 60% состоят из лимфоцитов, малодифференцированные клетки (бласты и большие лимфоциты) встречаются единично, а делящиеся клетки не выявлены. Кроме лимфоцитов в большом количестве присутствуют плазмциты, изредка встречаются гистиоциты. Количество деструктивно измененных клеток составляет порядка 5%. Среди стромальных клеток около 25% приходится на клетки фибробластического ряда и менее 2% на ретикулярные клетки. В междольковой соединительной ткани около 50% составляют иммунокомпетентные клетки (малые лимфоциты и плазмциты) и 50% - клетки фибробластического ряда. В светлом центре лимфоидных узелков клетки с картинами митоза не выявляются, отмечается высокий уровень деструкции клеток и макрофагальной реакции. В жировой ткани по периферии опухоли вдоль кровеносных и лимфатических сосудов встречаются плотные лейкоцитарные инфильтраты. Вокруг гемокapилляра преобладают плазматические клетки (около 25%), вокруг лимфатического капилляра преобладают лимфоциты (более 60%).

Выводы. Сравнительный анализ состава лимфоидных образований и лейкоцитарных инфильтратов в молочной железе при инвазивном раке неспецифического типа разных биологических подтипов показал, что выраженность лимфоидной инфильтрации выше в случаях Luminal B с высоким индексом пролиферации опухолевых клеток (Ki-67 $\geq 30\%$). Самая высокая степень лимфоидной инфильтрации была выявлена в случаях тройного негативного подтипа рака молочной железы (индекс пролиферации Ki-67 = 33-35%), который отличается наиболее агрессивным течением и считается наиболее неблагоприятным по прогнозу и ответу на химиотерапию (Сазонов

и др., 2017). В этих же случаях наблюдаются обширные очаги некроза и выраженный фиброз стромы железы. Наличие лимфоидных скопле-

ний в виде узелков и плотных лимфоидных инфильтратов может являться прогностическим критерием при постановке диагноза.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ ЛХС-1208 И ЛХС-1269 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В НЕОПЛАСТИЧЕСКУЮ ТРАНСФОРМАЦИЮ И ОПУХОЛЕВУЮ ПРОГРЕССИЮ

Зенков Р. Г.¹, Фетисов Т. И.¹, Эктова Л. В.¹, Лесовая Е. А.^{1,2}, Белицкий Г. А.¹, Якубовская М. Г.¹, Кирсанов К. И.^{1,3}

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Рязань

³ФГБОУ ВПО РУДН, Москва, Россия

Введение. Производные индолокарбазолов представляют интерес как источник потенциальных противоопухолевых препаратов. Новые вещества этого класса, ЛХС-1208 и ЛХС-1269, были синтезированы в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и проявили высокую противоопухолевую активность и низкую токсичность в экспериментах *in vivo*. Однако молекулярные основы их действия остаются малоизученными. Мы показали, что оба вещества способны связываться с ДНК. Для ЛХС-1208 продемонстрировали способность ингибировать топоизомеразы I и IIα человека *in vitro*, тогда как ЛХС-1269 в данных тестах был неактивен. На клеточных культурах *in vitro* наибольшая цитотоксичность показана в отношении рака толстого кишечника.

Целью исследования было изучение влияния производных индолокарбазолов ЛХС-1208 и ЛХС-1269 на экспрессию генов, вовлеченных в неопластическую трансформацию и опухолевую прогрессию

Материалы и методы. Эксперименты проводили на линии клеток аденокарциномы толстой кишки человека HT29. Влияние соединений на уровень экспрессии 84 генов, продукты которых вовлечены в неопластическую трансформацию и опухолевую прогрессию, изучали с применением набора RT2Profiler™ PCR Array Human Cancer Pathway Finder (QIAGEN). Влияние на экспрессию 84 таргетных генов основных сигнальных путей клетки исследовали с помощью набора RT2Profiler™ PCR Array Human Signal Transduction Pathway Finder (QIAGEN). Эксперименты проводили в трех биологических повторениях, результаты обрабатывали в программном обеспечении QIAGEN. Влияние веществ на уровень экспрессии таргетных генов сигнального пути Wnt оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием праймеров, подобранных в программе Primer-BLAST. Изменение уровня экспрессии вычисляли с применением метода ΔΔCt.

Результаты. При исследовании влияния индолокарбазолов на уровень экспрессии генов, продукты которых вовлечены в неопластическую

трансформацию и опухолевую прогрессию, было показано, что обработка клеток HT29 ЛХС-1208 вызвала изменение экспрессии 13 генов, вовлеченных в ангиогенез (SERPINF1, FLT); апоптоз (BCL2L11, BIRC3, CASP7); клеточное старение (IGFBP3, IGFBP5, IGFBP7); регуляцию метаболизма (LPL); ответ на повреждение ДНК и активацию репарации (DDB2, POLB); ответ на условия гипоксии (LDHA); а также контроль за активностью теломеразы и длины теломер (TERF2IP). Повышение уровня экспрессии генов ответа на повреждение ДНК и репарации, а также апоптоза, по всей видимости, свидетельствует о накоплении разрывов ДНК в результате интеркаляции и ингибирования топоизомераз I и IIα. ЛХС-1269 модулировал экспрессию 15 генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла (AURKA, MCM2); ангиогенез (VEGFC, KDR, CCL2); апоптоз (BIRC3, FASLG); клеточное старение (MAP2K3, IGFBP3, IGFBP5); ответ на повреждение ДНК и активацию репарации (GADD45G, POLB); ответ на условия гипоксии (EPO); а также эпителиально-мезенхимальный переход (KRT14, CDH2).

В исследовании влияния агентов на экспрессию таргетных генов сигнальных путей ЛХС-1208 изменял экспрессию 20 таргетных генов путей PPAR (OLR1, SORBS1, SLC27A4), Wnt (AXIN2, DAB2, MMP7), NFκB (BCL2A1, BIRC3, CSF1, CCL5, ICAM1), JAK/STAT (CCND1, GATA3, MCL1), TGFβ (GADD45A), p53 (CDKN1A), Notch (HEY1), а также ответа на гипоксию (CA9) и оксидативный стресс (GCLC, TXNRD1). ЛХС-1269 изменял экспрессию 11 таргетных генов путей PPAR (SORBS1), NFκB (CCL5, ICAM1, TNF), JAK/STAT (CCND1), TGFβ (GADD45A, CDKN1B), Hedgehog (BMP4), а также ответа на гипоксию (LDHA, SLC2A1) и оксидативный стресс (GSR).

Поскольку нарушение канонического сигнального каскада Wnt является ключевым патогенетическим звеном при раке толстого кишечника, отдельно проведено исследование влияния соединений на экспрессию таргетных генов этого пути CCND1, cMYC, MMP7, LEF1. Показано, что ЛХС-1208 подавляет экспрессию всех генов,

тогда как ЛХС-1269 снижает экспрессию только CCND1, MMP7 и LEF1.

Выводы. Полученные данные указывают на то, что оба исследуемых соединения способны модулировать экспрессию генов, вовлеченных в неопластическую трансформацию и опухолевую

прогрессию. Это, по всей видимости, свидетельствует о мультитаргетном механизме действия новых производных индолокарбазолов ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-315-70038

ВЕНОЗНЫЕ РЕЗЕКЦИИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кит О. И.¹, Франциянц Е. М.¹, Кательническая О. В.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ

Введение. Злокачественные новообразования (ЗНО) поджелудочной железы составляют около 3% от всех онкологических заболеваний и занимают лидирующие позиции в структуре смертности. Летальность больных в течение года от момента установки диагноза достигает 66%. В последнее 10 лет отмечается тенденция к росту заболеваемости раком поджелудочной железы (РПЖ) (Каприн А.Д. и соавт., 2018).

В связи с поздним появлением симптомов заболевания, РПЖ имеет самый высокий показатель несвоевременной диагностики. Поэтому только небольшая часть пациентов являются кандидатами на радикальное оперативное вмешательство. При этом у 30% больных опухоль диагностируется на этапе погранично-резектабельного процесса с распространением на магистральные сосуды и близлежащие органы. При анализе зарубежных исследований не выявлено достоверных различий в частоте послеоперационных осложнений и летальности между стандартными вмешательствами и операциями с венозной резекцией (Ravikumar et al., 2014; Kulemann et al., 2015). Необходимо отметить увеличение продолжительности жизни больных после хирургического лечения за последнее десятилетие (Goldner et al., 2016).

Цель исследования. Изучить гетерогенность раково-ассоциированных фибробластов в инвазивном раке поджелудочной железы неспецифического типа (invasive carcinoma of no special type, ICNST).

Материалы и методы. В НМИЦ онкологии с 2015 по 2020 гг. выполнено 76 операций при ЗНО поджелудочной железы с венозной резекцией. В 64 случаях опухоль локализовалась в головке поджелудочной железы, пациентам выполнена панкреатодуоденальная резекция с венозной резекцией. В остальных случаях (12 больных) опухоль располагалась в теле, выполнена корпорокаудальная резекция поджелудоч-

ной железы с венозной резекцией. Чаще выполняли циркулярную резекцию вены с анастомозом конец-в-конец и краевые резекции вены.

Наиболее часто диагностировали умеренно-дифференцированную протоковую аденокарциному поджелудочной железы. Четверти больным в дооперационном периоде выполнено дренирование желчевыводящих путей. Никто из больных не получал неоадьювантную химиотерапию.

Результаты. В послеоперационном периоде оценивали проходимость зоны реконструкции, послеоперационные осложнения.

В раннем послеоперационном периоде тромбоз зоны реконструкции развился у двух больных, кровотечение – в одном случае. 30-дневная послеоперационная летальность составила 3,9% (3 больных).

В послеоперационном периоде у 11% больных развился панкреатический свищ, у 14% – гастростаз.

Макроскопически неполная резекция диагностирована у 2 больных (2,6%). После окончательного патологоанатомического исследования микроскопически неполная резекция выявлена в 22% исследуемых препаратов. Наиболее высокая частота резекции R1 обнаружена по забрюшинному краю.

В послеоперационном периоде 67% больным проводили адьювантную химиотерапию. Однолетняя выживаемость составила 76,3% (58 больных). У больной с гастроинтестинально-стромальной опухолью безрецидивный период превысил 21 мес., период наблюдения от момента протезирования НПВ – 63 мес.

Выводы. Венозная резекция и реконструкция при РПЖ могут быть выполнены безопасно с удовлетворительными результатами. Выполнение венозных резекций при ЗНО поджелудочной железы позволяют повысить резектабельность и улучшить отдаленные результаты лечения.

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Кирьянов Н. А.¹, Суханов С. А.²

¹ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия МЗ РФ

²БУЗ УР Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ УР, Удмуртская Республика, г. Ижевск.

Для раннего выявления рака шейки матки существенным является широкое внедрение цитологического скрининга, который позволяет формировать группы риска, имеющих наибольшую вероятность заболевания.

В настоящее время наибольшее распространение в скрининговых исследованиях получил метод жидкостной цитологии (ЖЦ), при котором материал не наносится на стекло, а помещается в пробирку с консервирующей и фиксирующей жидкостью. ЖЦ позволяет добиться стандартизации и увеличения производительности труда при проведении большого количества исследований. При сканировании готовых мазков выделяют пациенток с нормальной цитогаммой на основании объективных морфометрических критериев. Это довольно существенная группа обследуемых, обоснованно может быть отнесена к здоровым.

Одним из наиболее актуальных аспектов цервикальной цитологии является классификация реактивных предопухолевых изменений и опухолей, которая должна быть целесообразной и клинически значимой для врачей. В настоящее время во всем мире принята и используется как морфологами, так и гинекологами классификация Bethesda, которая была создана в первую очередь для цервикальной цитологии (Nayar R., 2015; Fadi W Abdul-Karim et al., 2017). В системе Bethesda главное внимание уделено призна-

кам атипии (от минимальных до выраженных) в клетках плоского эпителия.

Для диагностики атипичных клеток плоского эпителия требуется наличие трех обязательных признаков: плоскоклеточную дифференцировку; увеличенное я/ц соотношение; минимальные изменения ядер, включающие гиперхромия, глыбчатость и неравномерное распределение хроматина и многоядерность. Изменения ядер - обязательное условие для интерпретации атипичных клеток.

Если изменения в ядрах сочетаются с изменениями в цитоплазме, характерными для инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (койлоцитоз), такие картины могут быть оценены как интраэпителиальные поражения плоского эпителия низкой степени (нерезко выраженные изменения клеток плоского эпителия, соответствующие низкой степени риска развития рака). Эта группа охватывает изменения, характерные для легкой степени дисплазии.

Более тяжелые изменения эпителия характеризуются высокой степенью интраэпителиального поражения плоского эпителия, что соответствует высокой степени риска развития рака. Эта группа охватывает умеренную и тяжелую дисплазию.

Таким образом, ЖЦ может обеспечить высокую эффективность скрининга. При этом важным является тесное взаимодействие цитолога с гинекологом.

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ В СИСТЕМНОМ КРОВОТОКЕ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ

Кондакова И.В., Какурина Г. В., Стахеева М. Н., Черемисина О. В., Менькова Е. Н.,

Чойнзонов Е. Л.

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия.

Введение. В настоящее время известно, что опухолевые клетки могут приобретать способность к передвижению, в которой важную роль играет ассоциация/диссоциация актиновых филаментов, осуществляемая актин-связывающими белками (АСБ) (Александрова А.Ю., 2014). К актин-связывающим белкам относится белок CAP1 - аденилилциклаза ассоциированный протеин 1, который регулирует реконструкцию актина в ответ на клеточные сигналы, и функционально связан с кофилином 1 и профилином 1 – белками, осуществляющими разборку актиновых филаментов (Какурина Г.В., 2018). Другими актин-связывающими белками, важными для формирования феномена клеточной подвижности, являются эзрин и фасцин. Эзрин участвует в клеточной адгезии, выживании, подвижности (Liang F., 2017). Фасцин способствует нарушению эпителиальных межклеточных контактов, что приводит к инвазии опухолевых клеток (Rodrigues P.C. 2017). В литературе представлены весьма скудные данные о возможности присутствия актин-связывающих белков в сыворотке крови. Цель предлагаемого исследования заключается в изучении содержания CAP1, эзрина, кофилина 1, профилина 1, фасцина в сыворотке крови у больных раком гортани.

Методы исследования. В работе была использована сыворотка крови больных раком гортани (40 образцов, стадия T1-4N0-3M0) и 20 здоровых волонтеров. Работа была проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, было получено разрешение этического комитета института и информированное согласие каждого больного на проведение исследования. Для оценки содержания белков CAP1, эзрина, кофилина 1, профилина 1, фасцина в сыворотке крови был использован

метод иммуноферментного анализа (ИФА) на микропланшетном ридере Multiskan FC (Thermo Scientific). Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета программ Statistica 8.0.

Результаты. Впервые в сыворотке крови пациентов злокачественными опухолями были обнаружены актин-связывающие белки эзрин и профилин 1. При оценке содержания сывороточных показателей актин-связывающих белков было выявлено, что у больных раком гортани и гортаноглотки уровень сывороточного фасцина был достоверно ниже, чем в группе контроля. Уровень CAP1 был выше в группе больных раком гортани по сравнению с контрольной группой. При увеличении размера первичной опухоли значительно увеличивается содержание фасцина, CAP1 и профилина 1. Увеличение содержания фасцина и CAP1 наблюдалось при T2N0-1M0 по сравнению с T3N0-1M0 и при T3N0-1M0 по сравнению с T4N0-1M0, тогда как уровень профилина изменялся при переходе с T3N0-1M0 до T4N0-1M0.

В зависимости от метастатического статуса достоверно увеличивался в 10 раз уровень фасцина, в 1,6 раза уровень CAP1, и на 30% снижался уровень профилина в группе опухолей с метастазами в регионарные лимфоузлы по сравнению с неметастатическими опухолями.

Выводы. Образование метастатического рака гортани связано с повышением уровня фасцина, CAP1 и снижением уровня профилина, и эти показатели можно рассматривать в качестве кандидатных маркеров прогноза метастазирования рака вышеуказанной локализации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-015-00151 А).

ХРОНИЧЕСКАЯ НЕЙРОГЕННАЯ БОЛЬ КАК МОДИФИКАТОР ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ПРОЦЕССА

Котиева И. М.¹, Франциянц Е. М.², Додохова М. А.¹, Гулян М. В.¹, Каплиева И. В.²

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, Ростов-на-Дону

Введение. Хроническая нейрогенная боль в клинике рассматривается как последствия распространения рака, разрушения тканей и инвазии. В настоящее время пришло понимание, что именно нервная система является неотъемлемой частью канцерогенеза, а боль – показателем конкретных процессов и физиологических последствий, связанных с механизмами, которые также могут приводить к злокачественной пролиферации клеток. Стимуляция периферических афферентных ноцицепторов способствует боли при раке, однако молекулярные медиаторы и прямое взаимодействие, с помощью которых злокачественные или резидентные клетки модулируют ноцицепторы, точно не известны.

Нейропатическая боль определяется как «боль», вызванная повреждением или заболеванием соматосенсорной нервной системы, причем на всех ее уровнях – от периферического нерва до коры больших полушарий (Merskey, H.R. Bogduk, 2014).

Хроническая боль очень часто сопровождает онкопатологию и ассоциируется с прогрессией неоплазмы. При этом наблюдается в большей степени диссоциация между выраженностью болевого синдрома и степенью поражения нервной системы на разных ее уровнях. Это обусловлено включением патофизиологических механизмов, приводящих не только к гиперактивации периферических ноцицепторов, но и к рецепторопатии и нейрональным нарушениям, которые вызывают сенситизацию центральных нейронов и приводят к возникновению стойкого самоподдерживающего очага возбуждения в центральной нервной системе (Данилов А., 2016).

Патофизиологические механизмы хронической боли у онкологических больных сочетают как ноцицептивный (соматический или висцеральный компоненты), так и развитие нейропатии (W. Leppert et al, 2016).

Хронические болевые воздействия разного характера вызывают нарушения и изменения основных видов обмена веществ, с мобилизацией в начале процесса адаптивных метаболических механизмов, которые в процессе развития хронической болевой нейропатии могут приводить к развитию тяжелой и глубокой дисфункции

обменных процессов во всем организме, сопровождаясь сосудистыми нарушениями и последующим повреждением тканей (Решетняк В. К., 2014). Длительная ноцицепция, которая в начале патологического процесса мобилизует резервные возможности организма, в своем развитии приводит к перестройке практически всех видов биохимизма в целостной системе, что может привести к гормональным изменениям, развитию тяжелых иммунодефицитных состояний, аутоиммунной патологии и в конечном итоге к срыву адаптационных возможностей организма и развитию тяжелых патологий (Кукушкин М. А., 2004).

Хроническая боль является инициальным звеном запуска изменений гомеостаза, вызывая усиление синтеза и высвобождения цитокинов, хемокинов, факторов роста и многих протеаз во внеклеточное пространство (Котиева И. М. и соавт., 2017). Учитывая, что заметные взаимодействия неоплазии и опухолевых нервов были описаны в ряде злокачественных новообразований, медикаментозные вмешательства, направленные на периферическую нервную систему при нейрогенной боли, развивающейся при раке, представляют собой в будущем новую стратегию в терапии опухолей, а также предупреждение возможной ранней прогрессии неоплазмы (Kotieva I. M. et al., 2018)

Цель исследования. Изучить влияние хронической нейрогенной боли на течение злокачественного процесса и выяснение некоторых метаболических аспектов патогенеза.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на мышах обоего пола линии C57BL/6 (n=133), 8 недельного возраста с массой 21-22 гр. Животные распределялись на две группы: две контрольные-интактные (14 шт.) и мыши с воспроизведением экспериментальной модели хронической боли (по методу В. В. Кравцова 1966) (14 шт.), группа сравнения – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы B16 /F10 (45 шт.) и основная группа – мыши с моделью хронической боли, которым перевивалась меланома через 2 недели (60шт).

Радиоиммунным методом в сыворотке крови определяли факторы пролиферации и ангиоген-

неза: VEGFA (фактор роста эндотелия сосудов А), sVEGFR1 (рецептор 1 фактора роста эндотелия сосудов), VEGFC (фактор роста эндотелия сосудов С), VEGFD (фактор роста эндотелия сосудов D), sVEGFR2 (рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов), IGF1 (инсулиноподобный фактор 1), IGF2 (инсулиноподобный фактор 2), EGF (эпидермальный фактор роста), EGFR (рецептор эпидермального фактора роста), TGFβ1 (трансформирующий фактор роста), FGF 21 (фактор роста фибробластов).

Результаты. В системе ростовых факторов хроническая нейрогенная боль провоцировала рост VEGFA и VEGFC (активацию гемангио- и лимфангиогенеза) и изменение экспрессии других факторов: увеличение уровня инсулиноподобных (IGF1), и эпидермального факторов роста EGF, и уменьшение содержания фактора роста фибробластов 21 (FGF 21).

Половые различия заключались в том, что в коже самок VEGFA и VEGFC имели сильную положительную корреляционную связь с IGF1, IGF2 и EGF; в коже самцов значительная корреляционная связь была с IGF1.

После перевивки меланомы мышам с нейрогенной хронической болью на фоне тотального резкого увеличения VEGF, между факторами ангиогенеза и системой EGF – EGFR устанавливались значительные положительные корреляционные связи, главным образом, в коже и перифокальной зоне опухоли. У мышей из группы сравнения меньшая степень увеличения уровней ангиогенных факторов роста сочеталась с их высокими положительными корреляционными связями с системой IGF.

Причем, клинически на фоне хронической нейрогенной боли у мышей с опухолью происходило сокращение латентного периода появления первичной опухоли и раннее метастазирование.

Выводы. Меланома, автономно продуцирующая факторы роста для своего прогрессирования, помещенная в благоприятную для себя среду с уже накопленными ростовыми факторами при хронической боли, становится более агрессивной и развивается более стремительно.

Практически сразу после перевивки канцерогенез сопровождается усилением выработки факторов роста и рецепторов уже в ткани опухоли, ее перифокальной зоне и коже, не затронутой злокачественным процессом, что свидетельствует об активном участии не только самой опухоли в развитии процесса неоангио- и неолимфангиогенеза, но и первичном воздействии на пролиферацию и ангиогенез хронической нейрогенной боли. Таким образом, хроническая нейрогенная боль вызывала нарушения, способные стимулировать дальнейшее течение злокачественного процесса.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ И ИММУНОФЕНОТИПА EGFR-МУТИРОВАННОГО НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Купаева И. С.¹, Савелов Н. А.¹, Демидова И. А.¹, Михалева Л. М.^{2,3}

ГБУЗ «МГОБ №62 ДЗМ», Москва, Россия

ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», Москва, Россия

ФГБНУ НИИ морфологии человека, Москва, Россия

Введение. В настоящее время для лечения немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) с мутацией EGFR используется персонализированная терапия препаратами тирозинкиназных ингибиторов EGFR (Лактионов К. К. и соавт., 2019). Исследования, связанные с уточнением микроскопического строения EGFR-мутированного НМРЛ проводились преимущественно в Китае (Yu-Jie Dong et al., 2016; Wang K, et al., 2015) и Западной Европе (Arne Warth et al, 2014). В результате были выявлены преобладание папиллярного, микропапиллярного, стелющегося типов роста НМРЛ. Данных об особенностях микроскопического строения и иммунофенотипа EGFR-мутированного НМРЛ среди населения Российской Федерации крайне мало.

Цель исследования — ретроспективно уточнить особенности микроскопического строения и иммунофенотипа EGFR-мутированного НМРЛ на биопсийном и операционном материале.

Пациенты и методы исследования: Исследование проводилось в рамках ретроспективного анализа мутаций при НМРЛ. В рамках исследования использовался фиксированный формалином и залитый в парафиновые блоки биопсийный или операционный материал пациентов патологоанатомического отделения Московской Городской Онкологической Больницы №62 ДЗМ (МГОБ №62). В исследование включено 296 уникальных наблюдений НМРЛ, которые имеют уточненный методом ПЦР EGFR-статус опухоли. Уточнение EGFR-статуса проводилось в молекулярно-генетической лаборатории МГОБ №62.

В качестве метода исследования использовался микроскопический метод исследования гистологических срезов, изготовленных с парафиновых блоков и окрашенных гематоксилином и эозином, с дальнейшим выявлением преобладающего типа роста опухоли. Иммуногистохимический метод использовался для уточнения экспрессии TTF1 (Bond, Thyroid Transcription Factor-1, SPT-24; платформа Leica Bond III) и p63 (Ventana, anti-p63, клон 4A4; платформа Ventana Bench Mark Ultra). Для уточнения EGFR мутаций в НМРЛ использовался метод ПЦР (cobas EGFR Mutation Test v.2 на термодискете cobas 480 Z (ROCHE).

Результаты исследования: Среди 296 наблюдений было выявлено 79 EGFR-позитивных

опухолей. По преобладающему типу роста EGFR-позитивные аденокарциномы характеризовались преимущественно ацинарным типом роста – 45 наблюдений (56,9%), солидным типом роста – 22 наблюдения (27,9%), папиллярным – 7 (8,8%), стелющимся – 2 (2,6%), микропапиллярным – 1 (1,3%). Также были выявлены такие формы НМРЛ как железисто-плоскоклеточный рак – 1 (1,3%), комбинированная аденокарцинома с плеоморфноклеточным раком – 1 (1,3%). В 72 из 79 наблюдений проводилось иммуногистохимическое исследование, где 70 оказались позитивны по экспрессии TTF1 (97,2%). Также наряду с уточнением экспрессии TTF1 проводилась оценка экспрессии p63 в 17 наблюдениях: из них в 13 — негативная экспрессия, в 4 – слабая или очаговая экспрессия p63. Микроскопически на срезах с окрашиванием гематоксилином и эозином был подтвержден диагноз аденокарциномы легкого в оставшихся 7 случаях.

При ретроспективном анализе частоты активирующих мутаций EGFR было выявлено преобладание делеции в 19 экзоне (Del19) – 37 (47,0%) и замена L858R в 21 экзоне – 34 (43,0%). Количество инсерций в 20 экзоне составило 4 наблюдения (5,0%), мутаций T790M – 3 (3,8%), G719X в 18 экзоне – 1 (1,2%).

Выводы. В случае наличия EGFR-мутации микроскопически выявляется аденокарцинома легкого (77 из 79 наблюдений, 97,5%), которая практически всегда является TTF1-позитивной (70 из 72 наблюдений, 97,2%). Преобладающий тип роста для EGFR-мутированных аденокарцином легкого ацинарный и в меньшей степени солидный. В крайне редких случаях может наблюдаться железисто-плоскоклеточный рак и комбинированная аденокарцинома с плеоморфноклеточным раком легкого. Настороженность врача-патологоанатома в отношении аденокарциномы легкого, имеющей достаточно «классическое» микроскопическое строение и иммунофенотип, в совокупности с дальнейшим уточнением статуса мутации гена EGFR позволяют выработать персонализированный подход к лечению пациента и сделать лечение НМРЛ более эффективным, а также приблизится к международным тенденциям клинической практики.

ВЛИЯНИЕ ФУНГИЦИДА ТИРАМА НА СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В КАНЦЕРОГЕНЕЗ

Максимова В. П.¹, Усалка О. Г.^{1,2}, Пацюркевич А. А.¹, Сагитова Г. Р.², Якубовская М. Г.¹, Кирсанов К. И.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Россия

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, 119991, Москва, Россия

Введение: Пестициды широко используются в большинстве секторов сельскохозяйственного производства для предотвращения или сокращения потерь от вредителей и повышения урожайности. Более 1 миллиарда человек ежегодно контактируют с пестицидами в быту или на работе. Однако воздействие пестицидов может вызывать нарушения в различных клеточных процессах, что в результате приводит к ингибированию апоптоза, неконтролируемой пролиферации и общему нарушению клеточного гомеостаза. Кроме того, пестициды являются одним из основных канцерогенных загрязнителей пресной воды, которые поражают многие виды дикой природы и могут способствовать уменьшению биоразнообразия. В 2014–2020 годах Международная организация по изучению рака обозначила изучение молекулярных механизмов пестицидов из группы недоказанных канцерогенов, как наиболее приоритетное направление исследований молекулярной онкологии. Одним из таких соединений является тирам – фунгицид из класса карбаматов, используемый для защиты семян от возбудителей плесневения и корневых гнилей.

Целью данного исследования было изучение влияния фунгицида тирама на сигнальные пути, вовлеченные в онкогенез и опухолевую трансформацию.

Материалы и методы: В исследовании были использованы клетки HeLa. Для определения нетоксических концентраций тирама использовали МТТ-тест. Анализ эффектов канцерогенных ксенобиотиков на сигнальные пути, вовлеченные в клеточную трансформацию и онкогенез, оценивали с помощью метода количественной ОТ-ПЦР в реальном времени и набора RT² Profiler PCR Array Human Cancer Pathway Finder, представляющим из себя панель из 84 пар праймеров к генам, ассоциированным со следующими процессами: (1) запуск апоптоза, (2) регуляция клеточного цикла, (3) ангиогенез, (4) эпителиально-мезенхимальный переход, (5) репарация ДНК, (6) гипоксия, (7) клеточное старение, (8) ингибирование теломеразы, (9) метаболизм. Данные анализировали с помощью расчета значения порогового цикла (Ct) с нормализацией по экспрессии «генов домашнего хозяйства» – ACTB, GAPDH, RPLP0, HPRT1, B2M. Относи-

тельную экспрессию генетического локуса (Exp) рассчитывали по методу 2-ΔΔCt. Статистически значимым результатом считалось изменение экспрессии гена более чем в 1,5 раза с p<0.05, исходя из рекомендации производителя.

Результаты: После обработки клеток фунгицидом тирамом (2 мкМ, 24 ч) было зарегистрировано изменение уровней экспрессии для 34 генов панели из 84. Было показано, что при действии тирама происходит более чем двукратное снижение экспрессии генов ANGPT1, ANGPT2, ТЕК сигнального пути ANGPT/TIE2, который играет ключевую роль в активации ангиогенеза. Также было продемонстрировано значительное снижение экспрессии генов, кодирующих рецепторы фактора роста сосудистого эндотелия – VEGFR1 и VEGFR2 (в 2,0 и 2,3 раза), а также гена фактора роста сосудистого эндотелия VEGF-C (в 3,5 раза). Анализ влияния тирама на сигнальные пути клеточного старения показал, что инкубация клеток с данным агентом вызывает снижение экспрессии генов, необходимых для митогенеза – IGFBP3, IGFBP5, IGFBP7 и MAPK14 – в 1,9; 3,3; 1,7 и 1,6 раза соответственно. Было продемонстрировано, что при действии тирама происходит увеличение мРНК проапоптотических белков DDIT3 и CASP2 (в 7,7 и 3,9 раза), а также снижение экспрессии генов антиапоптотических белков BIRC3 и NOL3 (в 1,6 и 1,5 раза) и проапоптотических белков CASP7 и CASP9 (1,7 и 2,3 раза). Также было показано, что при действии тирама снижается экспрессия онкогенов ARNT, CA9, DDB2, LIG4 более чем в 1,5 раза. При этом не было зарегистрировано изменения экспрессии ни для одного гена, ассоциированного с ингибированием теломеразы.

Заключение: Полученные данные свидетельствуют о том, что фунгицид тирам может способствовать подавлению ангиогенеза и клеточной пролиферации – процессов, играющих важную роль в онкогенезе. Также данный агент оказывает сильное и одновременно неоднозначное влияние на компоненты системы программируемой клеточной смерти, в связи с чем необходимы дополнительные исследования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 18-75-00115.

ПИЩЕВОД БАРРЕТТА И ЦИЛИНДРОКЛЕТОЧНАЯ МЕТАПЛАЗИЯ КАК ПРЕДРАКОВЫЕ СОСТОЯНИЯ ПИЩЕВОДА

Маслѐнкина К. С.^{1,2}, Михалева Л. М.^{1,2}

¹ФГБНУ НИИ морфологии человека, 117418, Москва, Россия

²ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», 119415, Москва, Россия

Введение. В мире не существует единого подхода к диагностике пищевода Барретта (ПБ). В то время как в России (Зайратьянц, 2016) и США (Shaheen et al., 2016) пищеводом Барретта считается морфологически доказанная кишечная метаплазия дистального отдела пищевода, в Англии (Fitzgerald et al, 2014) и Японии пищевод Барретта рассматривается как любой тип цилиндроклеточной метаплазии (как кишечный, так и кардиальный) дистального отдела пищевода. Причина таких различий кроется в том, что кишечная и кардиальная метаплазия пищевода вносят разный вклад в процесс канцерогенеза (Bhat et al, 2011; Takubo et al, 2009). Однозначно доказано, что кишечная метаплазия связана с повышенным риском развития аденокарциномы пищевода, в то время как данные об участии в канцерогенезе кардиальной метаплазии пищевода противоречивы. Канцерогенез в дистальном отделе пищевода представляет собой многоступенчатый процесс, который включает в себя следующие этапы, на каждом из которых риск малигнизации увеличивается: ПБ/ЦМ, low-grade дисплазия, high-grade дисплазия, аденокарцинома.

Цель исследования – провести клиникo-морфологический анализ пациентов с пищеводом Барретта и цилиндроклеточной (кардиальной) метаплазией (ЦМ) пищевода и выявить факторы риска прогрессии.

Пациенты и методы: В исследование вошли 80 пациентов, из них 50 пациентов с ПБ и 30 – с ЦМ дистального отдела пищевода, из них 43 мужчины и 37 женщин в возрасте от 18 до 94 лет (средний возраст 56,45±17,67 лет). При ЭГДС сегменты метаплазии имели протяженность от С0М1 до С13М14. Биопсированные фрагменты дистального отдела пищевода окрашивали гематоксилином и эозином, а также реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим по стандартной методике для выявления бокаловидных клеток. Также для подтверждения наличия кишечной метаплазии проводили иммуногистохимическое исследование с антителами к MUC2

(клон Сср58, Ventana; Roche). Статистический анализ проводили с использованием критерия Стьюдента (для возраста) и хи-квадрата Пирсона (для остальных показателей), статистически значимым считали значение $p < 0,05$.

Результаты исследования: В группу пациентов с гистологически подтвержденным ПБ вошли 33 мужчины и 17 женщин, средний возраст 60,82±15,13. Группа пациентов с ЦМ состояла из 10 мужчин и 20 женщин, средний возраст 49,13±19,37. Соотношение мужчин и женщин при ПБ составило 1,9:1, в то время как при ЦМ наблюдалось обратное соотношение – 1:2. При сравнении среднего возраста пациентов с ПБ и ЦМ значимых различий не получено. При ЭГДС у 32 пациентов с ПБ выявлен короткий сегмент метаплазии, у 18 пациентов – длинный, а при ЦМ у 28 пациентов выявлен короткий сегмент метаплазии и у 2 пациентов – длинный. Таким образом, длинный сегмент метаплазии значительно чаще выявляли при ПБ по сравнению с ЦМ ($p < 0,01$). При гистологическом исследовании признаки дисплазии выявили у 11 из 50 (22%) пациентов с ПБ (10 случаев с low-grade дисплазией и 1 случай с high-grade дисплазией) и у 1 из 30 пациентов (3,3%) с ЦМ (high-grade дисплазия), ($p < 0,05$). Большинство случаев дисплазии выявлены в длинном сегменте ПБ (9 из 11 случаев) и ЦМ (1 случай), $p < 0,001$. Кроме того, среди пациентов с дисплазией преобладали мужчины (10 из 11 пациентов с ПБ), $p < 0,05$.

Выводы: Группы пациентов с ПБ и ЦМ обладают разными демографическими характеристиками: при ПБ соотношение мужчин и женщин составляет 1,9:1, в то время как при ЦМ наблюдается обратное соотношение (1:2). При этом дисплазия в метаплазированном сегменте пищевода значительно чаще диагностируется у мужчин, в длинном сегменте метаплазии и у пациентов с ПБ по сравнению с ЦМ. Таким образом, мужской пол, длинный сегмент метаплазии и кишечная метаплазия являются факторами риска прогрессии.

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОНКОЛОГА И ПАТОЛОГОАНАТОМА

Махмутова В. И., Смирнова А. С.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ямало-Ненецкого автономного округа «Надымская центральная районная больница», г. Надым, Россия.

Цель. Для качественной реализации основных задач современной медицины, эффективности процессов диагностики и лечения, необходима слаженная междисциплинарная работа врачей различных направлений. Взаимодействие между врачами различных специальностей, с целью изучения различных аспектов одного и того же объекта за счет взаимообмена информацией и «здоровой» конкуренции разных типов знаний, позволит каждому врачу сформировать целостную картину о состоянии пациента, проявлений болезни и решении вопроса о тактике лечения пациента.

Рассмотреть необходимость междисциплинарного взаимодействия смежных дисциплин – онкологии и патологической анатомии. Точками соприкосновения данных дисциплин являются: объект исследования, выбор дальнейшей тактики, метода лечения и его контроль.

Результаты. Важным аспектом продуктивной реализации главных задач практического здравоохранения является взаимодействие между онкологом и патологоанатомом.

Во-первых, объектом исследования для врачей обеих специализаций является онкобольной пациент. Для врача – патологоанатома пациент выступает как объект исследования для проведения как прижизненной, так и посмертной патологоанатомической диагностики.

Во - вторых, выбор дальнейшей тактики и метода лечения онкобольного основывается на прижизненной диагностике биопсийного и операционного материала, знании о гистогенезе и структуре опухоли, степени ее дифференцировки, состоянии рецепторов раковых клеток, антигенной характеристики опухоли, а также метастазов. Поэтому, совместно врач - патологоанатом и врач-онколог решают вопрос о необходимости и целесообразности проведения дополнительных современных методов исследования (иммуногистохимическое исследование, гибридизация на месте и прочие), для дальнейшего принятия решения о тактике ведения пациента. Во время про-

ведения прижизненного патологоанатомического исследования операционного и биопсийного материалов, зачастую, вне зависимости от локализации опухолевого процесса, врач-патологоанатом оценивает края резекции и регионарные лимфатические узлы на предмет пролиферации «раковых» клеток. На основании полученных данных о радикальности лечения, онколог вносит поправки в дальнейшее лечение пациента.

В-третьих, врачами совместно проводится контроль эффективности проведенного лечения, который может осуществляться на различных этапах - это важный пункт в лечебно-диагностическом процессе. Контроль лечебного патоморфоза позволяет оценить типовые и стойкие изменения клинических и морфологических проявлений опухоли под воздействием лечения (Раппопорт Я. Л., 1962, Лушников Е. Ф., 1977, Краевский Н. А., 1976), что позволяет спрогнозировать дальнейшую судьбу пациента.

Прижизненная диагностика не всегда бывает законченной, а потому окончательный диагноз устанавливают только при проведении посмертного патологоанатомического исследования (Лушников Е. Ф., 2017). Согласно приказу о порядке проведения патологоанатомических исследований, при смерти пациента от онкологического заболевания при отсутствии гистологической верификации опухоли, обязательно проводится патологоанатомическое вскрытие. Установленный в результате патологоанатомического вскрытия диагноз является заключительным, синтезирует в себе имеющиеся у больного патологические изменения в клинкоанатомическом аспекте.

Выводы. Таким образом, врачебная деятельность онколога и патологоанатома непременно должно осуществляться совместно. Патологоанатом должен знать основы клинической онкологии, а онколог возможности патологоанатомической службы. Только совместная, слаженная деятельность врачей улучшит качество медицинской помощи (Лушников Е. Ф., 2017).

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОФЕНОТИПА ДИФFUЗНОГО ТИПА РАКА ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ГАСТРОБИОПСИИ

Мидибер К. Ю.^{1,2}, Михалева Л. М.^{1,2}

¹ФГБНУ НИИ морфологии человека, Москва, Россия

²ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», Москва, Россия

Введение. Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место в мире по распространенности среди всех злокачественных новообразований и является третьей по значимости причиной смертности от онкологических заболеваний.

РЖ является мультифакториальным, морфологически неоднородным заболеванием. В 1965 г. Lauren P.A. предложил классификацию РЖ, в которой выделяют интестинальный (кишечный), диффузный и смешанные гистотипы (Laurén, Acta Pathol Microbiol Scand, 1965).

РЖ интестинального типа чаще всего ассоциирован с действием факторов окружающей среды и, как правило, встречается в старших возрастных группах у мужчин (Binh et al., Gut Pathog, 2017). В то время как диффузный тип рака желудка (ДТРЖ) является в большей степени генетически детерминированным заболеванием и чаще встречается у более молодых пациентов, при этом с одинаковой частотой среди мужчин и женщин (World Cancer Report 2014, WHO Press, 2015).

В отношении ДТРЖ по Lauren в научной литературе представлены данные о положительной экспрессии к CDX-2, СК7, HerPar-1 примерно в 70% наблюдениях, причем в половине случаев выявлена положительная экспрессия к СК20, MUC2, MUC5AC, в сочетании с отрицательной экспрессией к MUC1 и E-кадгерину (Wong et al., J Gastrointest Oncol, 2012).

Цель исследования – провести патоморфологический анализ гастробиоптатов от пациентов с установленным диффузным типом рака желудка и проанализировать варианты экспрессии иммуногистохимических маркеров к E-кадгерину, СК7, СК20, MUC1, MUC2, MUC5AC, а также HER2-статус опухоли.

Пациенты и методы. В исследование вошло 130 пациентов с диагностированным диффузным типом рака желудка, из них в большин-

стве случаев была выполнена гастробиопсия с последующим оперативным лечением в объеме резекции желудка или гастрэктомии с лимфодиссекцией D2. В настоящий раздел научной работы вошли 20 пациентов с подтвержденным диффузным типом рака желудка только по данным гастробиопсии с использованием окраски гематоксилином и эозином, а также реактивом Шиффа в сочетании с альтиановым синим. Для анализа возможных вариантов экспрессии, а также изучения диагностического потенциала были использованы иммуногистохимические маркеры к E-кадгерину, СК7, СК20, MUC1, MUC2, MUC5AC, а также был определен HER2-статус опухоли.

Результаты исследования: По нашим данным положительная экспрессия к СК7 и MUC5AC была выявлена в 60% наблюдений, СК20 – 20%, MUC1- 30%, MUC2 – 25%, E-кадгерину в 40% случаев. Также в 85% случаев был определен отрицательный HER2-статус опухоли.

Обращает на себя внимание большой процент положительных случаев к MUC1 (30%) и E-кадгерину (40%). Данный факт дает нам основание предположить, что при тщательном исследовании уже операционного материала у данных пациентов возможно будет выявлен смешанный тип рака желудка по Lauren.

Выводы: Очевидно, что объем материала при гастробиопсии ограничивает возможности использования больших панелей иммуногистохимических маркеров, однако в большинстве случаев это помогает лучше изучить гистогенез рака желудка и определить возможные подходы для проведения неоадьювантной терапии у определенных групп больных. Данное обстоятельство подчеркивает необходимость не только своевременной диагностики РЖ, но и персонализированного подхода к каждому пациенту.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ РАКА ПЕДЖЕТА ИНТАММАРНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

Мнихович М. В.¹, Безуглова Т. В.¹, Черников В. П.¹, Романов А. В.², Снегур С. В.⁴,

Павлова Ю. Г.^{4,5}, Васин И. В.^{4,5}, Камаль Халави Скафи³, Куш Д. С.², Малюгин Н. Г.²,

Балаянц В. А.²

¹ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

³Медицинский центр Клалит, Иерусалим, Израиль

⁴Рязанская Областная Клиническая Больница

⁵Рязанский Государственный Медицинский Университет им. И.П. Павлова

Введение. Рак Педжета (РПМЖ) – редкий тип рака, поражающий кожу соска и ареолы молочной железы. В 1856 г. S. Velpeau впервые описал изменения сосково-ареолярного комплекса (эритема, экзематозные изменения и т.д.), характерные для данной формы рака. Однако лишь в 1874 г. J. Paget отметил связь между этими изменениями и карциномой молочной железы. В большинстве случаев рак Педжета связан с одной или несколькими подлежащими опухольями. Эти опухоли чаще всего представляют собой DCIS или инвазивный рак молочной железы.

РПМЖ может протекать асимптомно и не подтверждаться при клинических исследованиях. Диагностика в таких случаях базируется на данных гистологического исследования.

Определены 3 варианта изменений при данной форме рака: только в области сосково-ареолярного комплекса (изменения соска), ареолы при наличии опухолевого узла в молочной железе; только опухолевый узел в молочной железе при клиническом обследовании, сочетающийся с гистологически (как находка) выявленным раком Педжета соска и ареолы. В настоящее время в мире наблюдается тенденция к гипердиагностике рака Педжета (Harris J.R. et al., 2009; Caliskan M et al., 2008; Kanitakis J. 2007).

Цель исследования: поиск дополнительных дифференциально-диагностических ИГХ-маркеров рака Педжета (соска).

Методы: Изучен хирургический материал, полученный от 10 женщин в возрасте 28-63 лет

с подтвержденным диагнозом: рак Педжета. Средний возраст пациенток - 43 года. Материал изучен с помощью световой микроскопии, ИГХ-диагностики и трансмиссионной электронной микроскопии в электронном микроскопе «ZeissLibra 120». Были использованы следующая панель антител: CK7, CD138, E-кадгерин, MUC1, GATA3.

Результаты: В представленных образцах в полях разрастания опухолевых клеток в эпидермисе наблюдались: интенсивная, широкая экспрессия CK7, широкая, но менее интенсивная экспрессия CD138 и E-кадгерина, интенсивная, но менее широкая экспрессия GATA3, низкая экспрессия MUC1.

Выводы: CD138 можно использовать в качестве основного дифференциально-диагностического маркера для клеток Педжета и Токера, поскольку известно, что клетки Токера имеют низкую экспрессию CD138.

CK7 может использоваться как дополнительный ИГХ-маркер болезни Педжета из-за высокой чувствительности. Однако он не может использоваться в качестве первичного маркера из-за его низкой специфичности (CK7 также диффузно экспрессируется в протоковых карциномах молочной железы и неспецифических карциномах молочной железы). В качестве дополнительных маркеров рака Педжета могут использоваться также GATA3, MUC1 и E-кадгерин.

О СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА – БИОБАНКОВ

Мнихович М. В., Безуглова Т. В.

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», г. Москва

Введение. В Российской Федерации тема создания биобанков набирает популярность. Научно-исследовательские институты, университеты, крупные больницы и ЛПУ периодически заявляют о создании биобанков и начале формирования собственной коллекции.

Создание банков-депозитариев любых биоматериалов, а особенно биоматериала человека связано с необходимостью решения ряда сложных медико-биологических задач. Развитие индивидуальной и трансляционной медицины, до конца не решенная задача смыслового прочтения генома человека делают невозможными современные исследования в области онкологии, молекулярной и клеточной биологии, а также в смежных биомедицинских областях без сбора коллекций, хранения и использования биоматериала.

Биобанк – упорядоченное хранилище образцов биологического материала и ассоциированной клинической информации, предназначенных для проведения биомедицинских исследований.

Биобанкирование шагнуло вперед и сегодня может обслуживать не только потребности фундаментальной науки, но некоторых отраслей практического здравоохранения.

Биобанкирование способствует обмену знаниями и навыками между различными группами исследователей, вовлеченных в пробоподготовку, хранение биоматериала и различные научные исследования. Особенно актуально биобанкирование для разработки и осуществления научно-исследовательских проектов в области онкологии, а также при производстве и разработке продуктов исследовательского назначения на основе клеточных и тканевых технологий.

Результаты. В настоящее время в Центральной патологоанатомической лаборатории НИИ морфологии человека проводятся работы по созданию коллекции-депозитария, хранению и использованию некоторых образцов опухолей

молочной железы, органов мочеполовой и репродуктивной системы для обеспечения клинических и научно-исследовательских проектов. Это позволит более детально изучить клинические проявления, патоморфологические варианты, возможные модели опухолевой гетерогенности и прогрессии для создания диагностических и прогностических тестов, выявления биомаркеров опухолей, а также для разработки новых лекарственных препаратов.

Была разработана основа для создания база данных, включающая: систематизацию и хранение ассоциированной клинической информации (клинические данные пациента, результаты лабораторных исследований) и внутренних данных биообразца (внутренний индекс, место в хранилище, дата поступления и т.д.).

Заключение. Таким образом, формирование коллекции-депозитария, хранение и использование морфологического материала гиперпластических заболеваний молочной железы, органов мочеполовой и репродуктивной системы будут использованы для обеспечения клинических и научно-исследовательских проектов по созданию диагностических и прогностических тестов для выявления биомаркеров заболеваний, а также для разработки терапевтических воздействий.

Создание коллекции-депозитария, хранение и использование морфологического материала воспалительных заболеваний молочной железы, органов мочеполовой и репродуктивной системы позволит обеспечить проведение клинических и научно-исследовательских проектов.

В дальнейшем предполагается создать информационно-архивную систему для хранения и обработки сведений о материалах коллекции-депозитария и обеспечения пользователям доступа к данным биобанка путем создания двух взаимосвязанных типов материала – биологических образцов и информационных данных.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭККРИННОЙ ПОРОКАРЦИНОМЫ

Мнихович М. В.¹, Безуглова Т. В.¹, Романов А. В.², Снегур С. В.⁴, Павлова Ю. Г.^{4,5},

Камаль Халави Скафи³, Куш Д. С.², Балаянц В. А.²

¹ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

³Медицинский центр Клалит, Иерусалим, Израиль

⁴Рязанская Областная Клиническая Больница

⁵Рязанский Государственный Медицинский Университет им. И. П. Павлова

Введение. Эккринная порокарцинома (ЭП) - это редкий тип рака кожи (от 0,005 до 0,01%), который образуется из потовых желез. Эта опухоль является злокачественным аналогом поромы (Bonadio J. et al., 2006).

Диагностика порокарциномы трудна, потому что, во-первых, эти опухоли невероятно редки, и, во-вторых, у них много общих структур с другими опухолями, из-за которых можно ошибочно диагностировать такие опухоли как: эккринная порома, базально-клеточный рак, плоскоклеточный рак, злокачественная меланома и др. (Abdulwahid M. et al; Wick M.R. et al., 1985; Spiro R.H. et al., 1978).

Эккринная порокарцинома возникает у больных от 12 до 92 лет (средний возраст 68 лет). Почти в 50% она встречается на нижних конечностях (голенях, стопах, бедрах), относительно часто на волосистой части головы и лице, редко — на подошвах и ладонях. Клинически начальным признаком эккринной поромы является папула. В дальнейшем клиническая картина зависит от особенностей возникновения опухоли и продолжительности ее существования. Эпидермотропные злокачественные эккринные поромы *in situ* имеют веррукозную или чешуйчатую поверхность и на ранней стадии развития напоминают доброкачественный кератоз, диагноз трудно установить до тех пор, пока у больного не будет выражена симптоматика, в частности, появления на этом фоне узловатых сгруппированных элементов. Малигнизация первоначально доброкачественной эккринной поромы может сопровождаться внезапным и быстрым ростом опухоли, изъязвлением, зудом, болью, кровотечением из опухоли. Новообразование в этом случае приобретает сходство с пиогенной гранулемой или плоскоклеточным раком кожи. Пигментный вариант злокачественной эккрин-

ной поромы напоминает меланому. Чем больше размер опухоли, тем выше вероятность ее метастатического распространения.

Цель работы: Патоморфологическая оценка операционного материала кожи, иссеченной по поводу порокарциномы, с помощью соответствующих современных методик прижизненной морфологической диагностики.

Материал и методы: Данные по послеоперационной биопсии кожи и методам ИНС, полученные у 39-летнего пациента (1980 г.р.) с диагнозом порокарциномы кожи правой руки после удаления опухоли в 2012 г. и 2 рецидивами в 2016 г. (с последующими 7 курсов РСТ (Цисплатин, Паклитаксел) и 2017 (с последующими 2 курсами РСТ (Доксорубин, Цисплатин, Ластет)). Проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала кожи.

Результаты: При микроскопии отмечается удлиненный эпидермис, состоящий из связанных кластеров атипичных эпителиальных опухолевых пороидных клеток, солидных агрегатов опухолевых клеток и дуктальных структур, а также кистозных агрегатов из эпителиальных клеток. Заметные митотические фигуры и часто наблюдаются атипичные митозы.

При ИГХ исследовании отмечается диффузно-положительное цитоплазматическое окрашивание на панцитокератин, СК6 и СК7. Выраженная цитоплазматическая экспрессия СЕА и ЕМА наблюдалась в протоковых и кистозных структурах.

Выводы. Эккринная порокарцинома – редкая опухоль. Этот случай расширяет наше понимание природы, физиологии и патологии этой опухоли. Настоящее исследование дает надежду на своевременную и адекватную диагностику этих опухолей с последующим лечением.

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ КАРТИНА РАКА ПЕЧЕНИ РС-1 ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ФЛАВОНОИД-СОДЕРЖАЩИМ ЭКСТРАКТОМ И ЦИТОСТАТИКОМ

Мыльников А. М.¹, Наволокин Н. А.¹, Мудрак Д. А.¹, Полуконова Н. В.¹, Бучарская А. Б.¹,

Маслякова Г. Н.¹

¹ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России, г. Саратов, Российская Федерация

Введение. Онкологическая патология занимает одно из лидирующих мест в структуре смертности среди населения, в связи с чем остается актуальной проблема поиска новых средств для лечения больных с опухолевыми заболеваниями. Терапия с использованием цитостатиков является ключевым элементом консервативного лечения больных со злокачественными новообразованиями. Особое место в ряду препаратов занимают созданные на основе лекарственного растительного сырья средства, спектр фармакологической активности которых определяется входящими в их состав биологически активными веществами. Кроме того растительные препараты обладают способностью не только усиливать эффект химиопрепаратов, но и существенно снижать их токсичность.

Цель исследования: Изучить гистологические и иммуногистохимические изменения в ткани рака печени РС-1 после комбинированного лечения экстрактом аврана лекарственного и цитостатиком (циклофосфамидом).

Материалы и методы. Материалом послужило сырьё аврана лекарственного, приготовленного патентованным способом (Патент РФ 2482863). В эксперименте было использовано 16 самцов белых лабораторных крыс, которым подкожно, в межлопаточную область, имплантировали взвесь опухолевой массы рака печени РС-1. Исследуемые вещества (экстракт аврана, циклофосфамид) вводили внутривентриально, начиная с 5 суток после трансплантации опухоли, ежедневно, в течение трёх недель.

Использовались стандартные гистологические методы окрашивания гематоксилином и эозином и иммуногистохимическая окраска на

маркеры апоптоза (Вax (clone 100/D5, ab692)) и аутофагии (LC3b (ab48394)).

Результаты. При макроскопическом изучении опухоли в группе животных с комбинированной терапией отмечали некротизированные участки и кровоизлияния, что наблюдалось и в группе с монотерапией экстрактом аврана. Данный факт является показателем эффективности исследуемых веществ, поскольку одним из возможных путей регресса опухоли является постепенное развитие в опухолевых клетках некробиотических и дистрофических процессов.

При гистологическом исследовании, у крыс с комбинированной терапией, в ткани опухоли обнаружены обширные зоны некроза, уменьшенные в размерах клетки, появлялись «клетки-тени», что свидетельствует о выраженных атрофических и дистрофических процессах. Выявлено увеличение количества и утолщены соединительнотканых перегородок.

В опухолевых клетках крыс при иммуногистохимическом окрашивании на цитоплазматический маркер активации апоптоза Вax отмечали выраженную экспрессию данного маркера.

При иммуногистохимическом окрашивании на маркер аутофагии LC3b в клетках рака печени РС-1 в опухолевых клетках экспрессия была отрицательная

Выводы. Таким образом, при комбинации экстракта аврана и циклофосфамида наблюдаются выраженные признаки повреждения клеток опухоли (выявленные при гистологическом исследовании); признаки активации апоптоза (как наиболее благоприятного варианта гибели опухолевых клеток); блокируется аутофагия (как следствие не формируется резистентность опухоли к проводимой терапии).

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ СЕРДЦА ПРИ СТАНДАРТНОМ И СТИМУЛИРОВАННОМ ВАРИАНТЕ РОСТА МЕЛАНОМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Франциянц Е. М.¹, Нескубина И. В.¹, Шихлярова А. И.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России

Введение. В миоцитах сердца митохондрии занимают примерно одну треть объема клеток, что отражает их высокие энергетические потребности. Митохондрии клеток в сердце, расположены в основном рядом с миофиламентами и способны использовать жирные кислоты для производства и непрерывной подачи энергии, необходимой для работы и выносливости сердца (Ventura-Clapier R., et al., 2019). Общеизвестна тесная связь сердечно-сосудистых нарушений с опухолевой болезнью. Спектр кардиальных нарушений у онкологических больных достаточно широк и ассоциирован с повреждением не только мембран кардиомиоцитов, но и их субклеточных структур (Erick Avelar, et al., 2017). Болевой синдром является одним из самых распространенных симптомов у онкологических больных, а с прогрессированием заболевания его частота увеличивается (Leppert W., et al., 2016). Детальное исследование биологических параметров организма возможно на экспериментальных моделях. Приоритетом в этом случае служат животные модели.

Цель исследования. Изучить показатели апоптоза самоорганизации в митохондриях клеток сердца самок мышей линии C57BL/6 при стандартном и стимулированном хронической нейрогенной боли росте меланомы B16/F10.

Материалы и методы. Работа выполнена на мышках-самках линии C57BL/6 (n=168). Экспериментальные группы: интактная группа (n=21); группа сравнения (n=63) - стандартный рост меланомы B16/F10; контрольная группа (n=63) – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ); основная группа (n=63) – ХНБ+меланома B16/F10. Производили стандартное подкожное введения опухолевой взвеси под правую лопатку животных, 0,5 мл субстанции клеток в разведении 1:10 в физиологическом растворе. Модель ХНБ воспроизводили путем двустороннего наложения лигатуры на седалищные нервы под ксилазолетилловым наркозом (Кит О.И., и соавт., 2019). Декапитацию животных на гильотине в основной группе и в группе сравнения осуществляли на 7, 14 и 21 день роста меланомы. Митохондрии сердца выделяли методом дифференциального центрифугирования (Егорова М.В., Афанасьева С.А., 2011). Методом ИФА определяли концентрации: цитохрома С, каспазы-9, Bcl-2, AIF; кон-

центрацию кальция (Ca^{2+}) и белка. В митохондриальной суспензии исследовали структурную самоорганизацию митохондрий в мазках, окрашенных по Паппенгейму, под контролем фото и видео регистрации. Статистический анализ - пакет программ Statistica 10.0.

Результаты. Стандартный рост меланомы B16/F10 относительно интактных значений в митохондриях сердца снижал уровень кальция на 1-2 неделях в 2,9 раза и в 6,7 раза; AIF на 2-3 неделях в 1,4 раза (p=0,0017) и в 2 раза; Bcl-2 через 1-2 недели в 1,7 раза и 2,9 раза, а цитохром С и каспаза 9 были стабильны на всем протяжении роста меланомы. ХНБ снижала, уровень Ca^{2+} в 3,2 раза, Bcl-2 в 1,3 раза (p=0,0017), каспазы 9 в 1,5 раза и повышала AIF в 2,3 раза по сравнению с интактными значениями. Через 1 неделю стимулированного роста меланомы B16/F10 уровни Ca^{2+} и каспазы 9 выросли в 5,3 раза и 2,4 раза относительно контрольных величин, в последующие сроки роста меланомы Ca^{2+} снижался практически до неопределяемых значений. AIF, Bcl-2 и цитохрома С изменялись скачкообразно, но к концу эксперимента были на низком уровне со снижением AIF в 5,2 раза, Bcl-2 и цитохрома С в 2,2 раза. При микроскопии мазков суспензии митохондрий клеток сердца на 2-3 неделях стимулированного роста меланомы, был зафиксирован процесс холодного свечения высокой яркости в виде точечного хемоллюминесцентного реагирования субстрата, представляющего собой обширные поля мелких гранул ассоциатов митохондрий, так и образование укрупненных комплексов-ассоциатов линейной нитевидной формы. Свечение образцов митохондрий сердца сопровождалось яркими вспышками, а также 10-15 секундным интенсивным белым свечением с постепенным его угасанием и оседанием крупной нитевидной агрегации митохондрий на субстратный слой.

Выводы. Стандартный рост меланомы B16/F10 и ХНБ у самок мышей сопровождается снижением дыхательной и энергетической функции митохондрий сердца. Рост меланомы, стимулированной ХНБ, усугубляет митохондриальную дисфункцию с нарушением организации полиферментных систем апоптоза, высоким уровнем окислительного стресса, индуцирующего хемоллюминисценцию ассоциатов в рамках патогенетического механизма гибели кардиомиоцитов.

ЭКТОПИЯ И ДИСТОПИЯ: СХОДСТВА И РАЗЛИЧИЯ ПОНЯТИЙ

Николенко В. Н.^{1,2}, Морозов Д. А.³, Николаев М. Ю.²

¹Кафедра анатомии человека, Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

²Кафедра нормальной и топографической анатомии, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

³Кафедра детской хирургии и урологии-андрологии им. Л. П. Александрова, Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Введение: В медицинской литературе важна четкость изложения. Термины-синонимы приводят к неоднозначной интерпретации информации. Поэтому важны критерии, разделяющие такие понятия. В работе рассматриваются термины «эктопия» и «дистопия», значения которых до сих пор не унифицировано.

Цель работы: Выявить сходства и различия двух близких по значению терминов: «эктопия» и «дистопия».

Задачи: 1) изучить использование терминов «эктопия» и «дистопия» применительно к разным органам; 2) выявить закономерности их применения, сходства и различия, основанные на характере патологических изменений; 3) классифицировать случаи употребления на основании выявленных закономерностей

Методы: Методологией данного исследования были поиск, сбор и анализ научной литературы для получения современной информации о терминах «эктопия» и «дистопия». Каждая статья тщательно изучалась в ее полнотекстовом формате. Мы использовали следующие базы данных: Elsevier, NCBI MedLine, Scopus, Google Scholar и Embase, Pubmed.

Результаты: Термины «эктопия» и «дистопия» в широком понимании означают аномальное положение органа или его частей. При описании патологий в разных областях медицины в эти понятия вкладывается уточняющее значение. Патологическое положение органа может формироваться в результате дизэмбриогенеза или иметь приобретенный характер; возможно изменение прилежащих анатомических структур (кровеносных сосудов, связочного аппарата, положения других органов); может наблюдаться ухудшение функций неправильно расположенного органа. На основании этих признаков сформулированы критерии для конкретизации значения терминов. Проанализированы и классифицированы случаи употребления терминов «эктопия» и «дистопия» применительно к различным органам: хрусталик, селезенка, задний проход, мочеточники, почка, шейка матки, яичко.

Выводы: Употребление данных терминов на настоящий момент не подчиняется определенным закономерностям. Использование терминов «эктопия» и «дистопия» не всегда обеспечивает однозначность информации, поэтому их значения требуют доработки и унификации.

ТРУБНОЕ БЕСПЛОДИЕ КАК ФАКТОР СНИЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА: ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ И СОЦИАЛЬНЫЙ АСПЕКТЫ

Николенко В. Н., Ризаева Н. А., Оганесян М. В., Голышкина М. С., Павлюк П. А.,

Унаниян А. Л., Геворгян М. М.

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия

Введение. В настоящее время патоморфологические изменения маточных труб наблюдаются у 35-68% бесплодных женщин. 40,2% пациенток имеют психоэмоциональные расстройства в связи с заболеванием. Однако до сих пор уделяется недостаточно внимания психологической нагрузке на женщину в связи с продолжительным лечением. Прогнозируемым последствием трубного бесплодия является снижение овариального резерва, что ставит эту проблему в ряд социально-экономических.

Цель. Проанализировать этиологию непроходимости маточных труб и обосновать необходимость дополнения стандартов лечения трубного бесплодия активной психологической поддержкой пациентки.

Материалы и методы. Поиск информации проводился по электронным базам данных PubMed, Scopus, Elibrary, Киберленинка. Использовались следующие поисковые термины: «трубное бесплодие», «непроходимость маточных труб» и «рекомендации»; на английском: “tubal infertility”, “obstruction of the fallopian tubes” and “guidelines”.

Полученные результаты. Частой причиной непроходимости маточных труб становятся нарушения цилиарного транспорта: гибель эпителиальных клеток, потеря и снижение частоты биения ресничек. Последнее происходит при курении табака (в 3-50 раз), гормональных нарушениях или медикаментозной терапии, сопровождающейся высоким уровнем прогестерона. Повреждение эпителия фаллопиевых труб чаще всего имеет инфекционный генез. Ведущая роль принадлежит смешанной инфекции, вызванной хламидиями, микоплазмами и гонококками, образующими в виде их сочетаний. Наиболее выраженные повреждения наблюдаются при гонорее. При возникновении воспалительной реакции в маточных трубах наблюдается отёк, нарушение микроциркуляции и тканевого обмена, нередки слипание фимбрий. При инфекционном, химическом или механическом повреждении слизистой оболочки начинаются процессы склероза и рубцевания, развивается спаечный процесс. Один из вариантов разрастания соединительной ткани - облитерация просвета яйцевода, которая

чаще всего происходит в истмическом отделе. Поэтому хирургические манипуляции на органах малого таза, в том числе малоинвазивная лапароскопия и аборт, предполагают риск нарушения проходимости маточных труб. Очаги эндометриоза также нарушают проходимость яйцеводов, имплантируясь в маточных трубах вследствие антиперистальтического заброса менструальной крови или после внутриматочных манипуляций (Акетаева А.С., 2016). Одним из наиболее распространенных осложнений хирургического лечения эндометриоза является снижение овариального резерва с последующим ятрогенным бесплодием (Mikhaleva L. M., 2020). У женщин репродуктивного возраста, перенесших хотя бы одно органосохраняющее хирургическое вмешательство на органах малого таза по поводу трубно-перитонеального фактора бесплодия, в течение 6 месяцев после операции происходит уменьшение объёмов матки, яичников, нарушение их функциональной активности и истощается овариальный резерв (в 4 раза). Значения ФСГ $8,1 \pm 2,5$ МЕ/л, АМГ $1,9 \pm 0,7$ нг/мл, число антральных фолликулов $6,9 \pm 2,8$, объём яичников $7,9 \pm 3,8$ см³ (Жорданидзе Д. О., 2011). Соответственно, с увеличением кратности оперативных вмешательств на органах малого таза, возраста пациенток и длительности послеоперационного периода (более 12 месяцев) ухудшаются показатели функционального состояния яичников и овариальный резерв (Соснова Е.А. и др., 2014). Факт трубного бесплодия и связанное с этим снижение функции яичников отягощаются негативными эмоциональными реакциями пациентки. Наиболее частым диагнозом является генерализованное тревожное расстройство (23,2%), за которым следуют депрессия (17,0%) и дистимия (9,8%). Женщины склонны к самоосуждению: испытывают стыд из-за гендерных ролей, чувствуют себя изолированными. Им приходится иметь дело с реальностью невыполнения личных и культурных ожиданий материнства, а также с самим лечением, которое может быть продолжительным и болезненным (А. Galhardo, 2011).

Выводы. Определены основные причины возникновения непроходимости маточных

труб, приводящие к трубному бесплодию - заболеванию, влияющему как на функцию органов репродуктивной системы, так и на психоэмоциональное состояние пациентки. Этим доказывается необходимость введения в клинику культуры восприятия бесплодия как болезни,

течение которой должно сопровождаться психологической поддержкой. Разработка мер по достижению взаимодополняющих стратегий лечения со стороны гинекологии и психологии в настоящее время актуальна и требует дальнейших исследований.

МАРКЕРЫ НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ КИСТОЗНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЯИЧНИКОВ

Пацап О. И.¹, Михалева Л. М.^{2,3}, Давыдов А. И.⁴

¹ФГБУ «Федеральный Центр мозга и нейротехнологий», Москва, Российская Федерация;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, Российская Федерация;

³ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31 ДЗМ», Москва, Российская Федерация;

⁴Первый Московский государственный медицинский Университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Введение. Злокачественная трансформация эндометриоза – редкое явление, происходит примерно в 0.7-2.5% случаев и связано с эндометриозными кистозными образованиями яичников (ЭКОЯ) (Mikhaleva L.M. et al., 2020). Атипичный эндометриоз и эндометриоз-ассоциированные опухоли яичника обладают схожими молекулярными повреждениями, такими как мутации PTEN, ARID1A и CCTNB1. Уровень сывороточного онкомаркера CA125 = 35 Е/мл, расценивается как верхняя граница нормы в клинической практике. Этот маркер может повышаться у женщин с ЭКОЯ до значительных цифр, при этом считается неспецифическим. В нашей работе мы показали, что повышенный уровень CA125 при ЭКОЯ свидетельствует об изменении в морфологии клеток эндометриозного эпителия и стромы, связанным с началом неопластической трансформации.

Материалы и методы. Исследование было проведено на операционном материале от 104 пациенток в возрасте от 20 до 83 лет (средний возраст 36,58±0,95 лет) в период с 2016 по 2019 гг. У 69 из них были диагностированы ЭКОЯ при наличии в сыворотке крови пациенток нормальных уровней онкомаркера CA125, у других 35 - ЭКОЯ с повышенным уровнем онкомаркера CA 125. Нормальными уровнями CA125 были приняты значения до 35 Е/мл включительно. Иммуногистохимическое исследование антител WT1, p53, ARID1A(BAF250) проводилось с помощью иммуностейнеров «Leica Bond-maX» (Germany). Молекулярно-генетическое исследование мутаций гена KRAS осуществлялось методом ПЦР real-time. При статистической обработке результатов применялась описательная статистика, парный t-тест и r-коэффициент корреляции Пирсона. Существенные изменения ядерной экспрессии были выявлены при оценке иммуногистохимической реакции к WT1 и p53.

Результаты и обсуждение. У пациенток с CA125 до 60 Е/мл ядерная экспрессия WT1 в эпителии ЭКОЯ преимущественно была негативной, с единичными случаями с положительной ядерной экспрессией до 6,5% (в среднем 0,4±0,1%). У пациенток с повышенным CA125

свыше 60 Е/мл была выявлена положительная ядерная экспрессия WT1 в 30-86% (в среднем, 45,8±5,4%) клеток эпителия ЭКОЯ. Ядерная экспрессия протеина p53 была преимущественно wild-type, при этом неравномерно повышалась по мере роста уровня сывороточного CA125 и составила от 1 до 75% (в среднем 13,77±2,21%) в 99 случаях. В 5 случаях (CA125 94,3-301 Е/мл) уровень экспрессии p53 был выше 75%, что является показателем патологической экспрессии. Экспрессия ARID1A(BAF250a) в эпителии ЭКОЯ составила 70-96% (в среднем 83.73±0.67%). При молекулярно-генетическом исследовании мутации гена KRAS были выявлены 2 мутации: G12S при CA125-31,3 МЕ/мл и G12D при CA125-162 МЕ/мл, что в общем составило 1,9%. При статистическом анализе данных была выявлена сильная прямая зависимость между уровнем CA125 и экспрессией WT1 (r-коэффициент=0,83, p<0,0001) и между уровнем CA125 и экспрессией p53 (r-коэффициент=0,81, p<0,0001). При исследовании взаимосвязи между экспрессией WT1 и p53 в эпителии ЭКОЯ была выявлена сильная прямая корреляция (r-коэффициент=0,79, p<0,0001). Согласно нашим данным, при повышении уровня CA 125 свыше 60 Е/мл в сыворотке крови, в ЭКОЯ отмечается очаговая серозная дифференцировка эпителия с экспрессией серозных маркеров, таких как WT1 и p53, что может свидетельствовать о возможности начала трансформации таких образований в серозные опухоли яичника по типу пограничных и low grade. Серозные карциномы яичника, HGSC и LGSC, отличаются друг от друга генетическими нарушениями, клиническим течением и происхождением (Kurman, R.J. et al., WHO Class Tum, V6, 2014). HGSC ассоциирована с мутациями TP53, а LGSC - с мутациями KRAS и BRAF (Kurman RJ et al., 2016).

В нашем исследовании не было обнаружено потери экспрессии ARID1A в ЭКОЯ, но в эндометриозных карциномах яичника негативная экспрессия данного маркера описана до 30% в литературе (Xiao W. et al., 2012). Мутация KRAS связана с развитием серозной карциномы low

grade. В нашем исследовании были выявлены единичные случаи мутаций в ЭКОЯ, при этом в одном из них уровень СА125 был нормальным, экспрессия серозных маркеров была низкой, что связано с ранним периодом неопластической трансформации.

Выводы. Таким образом, использование иммуногистохимических маркеров WT1, p53,

ARID1A и молекулярно-генетического исследования мутации KRAS при исследовании операционного материала ЭКОЯ позволяет диагностировать ранние изменения в эпителии и скорректировать последующее ведение пациенток. При этом механизм и неопластической трансформации все еще остается не до конца изученным и требует дальнейших исследований.

ТРАНСЛЯЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРОМАГНИТОТЕРАПИИ В НЕЙРООНКОЛОГИИ

Попов И. А.¹, Кит О. И.¹, Шихлярова А. И.¹, Росторгуев Э. Е.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Введение. В современной нейроонкологии сделан существенный прорыв в использовании высокотехнологичных подходов хирургического и химиолучевого лечения. Это позволяет существенно повысить эффективность лечения. Однако, остаются нерешенными проблемы по улучшению качества и продолжительности жизни, обусловленные вторичными опухолевыми нарушениями – перифокальным отеком, ритмогенеза коры мозга, неврологическим дефицитом, ослаблением когнитивных функций мозга. Неудовлетворенность результатами лечения глиобластом диктует продвижение инновационных подходов, основанных на сочетании факторов разной природы. Одним из перспективных подходов считают транскраниальную импульсную магнитную стимуляцию (ТМС) и сверхнизкочастотную магнитотерапию (СНЧМП).

Цель исследования: повысить эффективность комплексного лечения больных со злокачественными глиомами головного мозга с помощью применения сочетания импульсной и сверхнизкочастотной транскраниальной магнитотерапии в раннем послеоперационном периоде и на этапе лучевой терапии на основе экспериментальных разработок режимов используемых факторов и изучения некоторых механизмов их действия.

Материалы и методы. В экспериментах использовали культуру клеток глиобластомы T98G. Изучены дозовые режимы СНЧМП, ТМС и лучевого воздействия на показатели летальности и митотической активности, а также экспрессии генов апоптоза Bcl2, Bax, P53, MDM2, Casp3 и генов-онкосупрессоров APC, MLH, MGMT. Трансляция метода транскраниальной магнитотерапии (ТМТ) осуществлялась в ранний послеоперационный период и на этапе лучевой терапии больным с глиобластомами головного мозга по программированному режиму двойного воздействия – центрально (на область гипоталамуса – СНЧМП 0,03 Гц-3,0 Гц-9,0 Гц, индукцией 3,2 мТл, а через 2-2,5 часа локально на область ложа опухоли ТМС с той же частотой импульсов индукцией 15 мТл).

Результаты исследования. Через 24 часа после воздействия ИМП индукцией 15 мТл на клетки T98G был зафиксирован наиболее сильный отклик для локуса P53, превышающий

контроль 1,9 раз, а также генетических локусов Bcl2 и Casp3 в 1,8 и 1,4 раза соответственно, при этом регистрировалось снижение трансляционной активности MGMT в 1,7-1,9 раза относительно контроля. После проведения ТМТ в послеоперационном периоде установлено снижение объема опухоли у пациентов основной группы в 3,7 раза по сравнению с контролем. На этапе лучевой терапии эти различия были нивелированы высокой эффективностью ионизирующего излучения, подтверждающие индивидуальность взаимодействия используемых факторов. В послеоперационный период было выявлено, что средний объем перифокального отека уменьшился у пациентов контрольной группы в 1,4 раза, а выраженность этого эффекта в основной группе была удвоена. Такая же динамика регрессии перифокального отека опухоли наблюдалась и после лучевой терапии, где разница в снижении абсолютных значений объема отека в основной группе по сравнению с исходным составила в среднем минус 64,2 см³, а в контроле – напротив, средний объем отека возрос на 36,5 см³. После сеансов ТМТ наблюдалось заметное улучшение неврологического статуса по критериям шкалы NIHSS и MoCA, характеризующим внимание и концентрацию, исполнительные функции, память, речь, оптико-пространственную деятельность, концептуальное мышление, счет и ориентированность во времени и пространстве, улучшенных более чем на 50%. Отмечалась восходящая восстановительная динамика по шкалам оценки качества жизни Бартела и Карновского. Наблюдалась положительная динамика ритмогенеза мозга и доминирование интегральных антистрессорных реакций. Полугодовая общая выживаемость в основной группе составила 84,2%. В контрольной группе эти показатели были в 2 раза ниже и составляли 40,3%, достоверность по Log-Ranktest на уровне $p=0,00013$.

Выводы. Результаты экспериментов на модели клеточной культуры глиобластомы человека T98G подтвердили клиническую безопасность и обоснованность технологии ТМС. Разработанный алгоритм воздействия ТМТ доказал возможность повышения эффективности комплексного лечения больных глиобластомами головного мозга с помощью сопроводительной те-

рапии ИМП и СЧМП слабой интенсивности в раннем послеоперационном периоде и на этапе лучевой терапии. Это проявилось в ингибировании продолженного роста опухоли, выраженном

противоотечном эффекте, повышении качества жизни и общей выживаемости.

Работа поддержана грантом РФФИ, договор № 19-315-90082\19 от 17.09.2019.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ PD-L1 В РЕДКИХ ФОРМАХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО: ПЛЕОМОРФНОКЛЕТОЧНОМ, ВЕРЕТЕНОКЛЕТОЧНОМ И ГИГАНТОКЛЕТОЧНОМ РАКАХ

Савелов Н. А.¹, Купаева И. С.¹, Михалева Л. М.^{2,3}

¹ГБУЗ «МГОб №62 ДЗМ», Москва, Россия

²ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», Москва, Россия

³ФГБНУ «НИИ морфологии человека», Москва, Россия

Плеоморфноклеточный, веретенноклеточный и гигантоклеточный раки легкого — это достаточно редкие формы немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), составляющие 0,1-1,6% от всех злокачественных опухолей легкого и характеризующиеся агрессивным клиническим течением и низкой выживаемостью. Обширное метастазирование опухоли, трудности микроскопической диагностики, связанные с гетерогенностью данных форм НМРЛ, особенности иммунофенотипа крайне затрудняют верификацию диагноза (Teri J. Franks et al., 2010). Однако по данным научной литературы такие редкие формы НМРЛ имеют заметный ответ на применение в лечении пембролизумаба (Martin Reck et al., 2019).

Цель исследования — Уточнить особенности экспрессии PD-L1 в плеоморфноклеточном, веретенноклеточном и гигантоклеточном формах НМРЛ.

Пациенты и методы исследования: Исследование проводилось в рамках ретроспективного анализа НМРЛ за период 2012-2020 гг. на базе патологоанатомического отделения Московской Городской Онкологической Больницы №62 ДЗМ. Использовался биопсийный или операционный материал, фиксированный формалином и залитый в парафиновые блоки. Уточнение диагноза проводилось на гистологических срезах парафиновых блоков, окрашенных гематоксилином и эозином. Уровень экспрессии PD-L1 оценивался в достаточной объеме материала (не менее 100 опухолевых клеток) при помощи иммуногистохимического метода исследования с использованием клона PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (Dako), окрашенных на иммуностейнере AutostainerLink 48 (Dako), и клона PD-L1 SP263 с использованием системы детекции OptiView DAB IHC Detection Kit (Roche, Ventana) на иммуностейнере Ventana ULTRA (Roche).

В данное исследование вошло 16 наблюдений редких форм рака легкого: плеоморфноклеточный рак — 11 (68,75%), веретенноклеточный

рак — 4 (25,0%), гигантоклеточный рак — 1 (6,25%). Суммарно наблюдений, окрашенных клоном PD-L1 22C3, составило 13 (81,25%), а клоном PD-L1 SP263 — 3 (18,75%). Оценивался процент позитивных опухолевых клеток (TPS, %) с наличием полного и/или частичного мембранного окрашивания опухолевых клеток вне зависимости от степени выраженности. В соответствии с результатом группа наблюдения была разделена по уровню экспрессии на негативную (TPS<1%), позитивную (TPS 1-49%) и выражено позитивную (TPS≥50%).

Результаты: В 11 (68,75%) наблюдениях была выявлена выражено позитивная экспрессия PD-L1 (TPS≥50%) на мембранах опухолевых клеток, в 2 (12,5%) — позитивная экспрессия PD-L1 (TPS 1-49%), в 3 (18,75%) — негативная экспрессия PD-L1 (TPS<1%).

Среди наблюдений плеоморфноклеточного рака было наибольшее количество выражено позитивной экспрессии PD-L1 — 7 (43,75%), позитивных по экспрессии PD-L1 — 2 (12,5%) и только 1 наблюдение с негативной экспрессией PD-L1 — 6,25%.

Среди веретенноклеточного рака легкого было обнаружено 3 (18,75%) выражено позитивных наблюдений и 1 (6,25%) негативное по экспрессии PD-L1.

В 1 (6,25%) наблюдении гигантоклеточного рака легкого обнаружена выражено позитивная экспрессия PD-L1.

Выводы: Количество PD-L1-позитивных наблюдений среди плеоморфноклеточного, веретенноклеточного и гигантоклеточного рака легкого значительно выше, чем среди всей группы немелкоклеточного рака легкого: 81,25% против 51,6% (M. Dietel et al., 2018), что открывает потенциальную возможность для более широкого применения в лечении редких форм НМРЛ как и режимов моноиммунотерапии, так и комбинированной химиотерапии с иммунотерапией.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОМПЛЕКСНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ПРИЖИЗНЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Снегур С. В.⁴, Павлова Ю. Г.^{4,5}, Мнихович М. В.¹, Безуглова Т. В.¹, Куш Д. С.², Балаянц В. А.², Романов А. В.², Васин И. В.^{4,5}, Камаль Халави Скафи³

¹ФГБНУ «НИИ морфологии человека»

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

³Медицинский центр Клалит, Иерусалим, Израиль

⁴Рязанская Областная Клиническая Больница

⁵Рязанский Государственный Медицинский Университет им. И.П. Павлов

Введение. Раки толстой и прямой кишки (колоректальный рак) – третий по распространенности вид злокачественных новообразований. В настоящее время имеются проблемы с выявлением прогностически неблагоприятных групп больных раком прямой кишки (РПК). Это связано с гетерогенностью опухоли. Прогноз заболевания зависит от морфологического исследования участков резекции и метастазов. В настоящее время стандартом лечения РПК становится удаление кишки с применением тотальной мезоректумэктомией. Это снижает местные рецидивы и улучшает результаты лечения. На практике патолог сталкивается с двумя видами объектов, полученных от пациентов с диагнозом колоректальный рак: биопсией и операционным материалом.

Цель: Изучить морфологию участков резекции при РПК, дать рекомендации по прижизненной морфологической и иммуногистохимической диагностике РПК, поскольку патологоанатомическое исследование операционного материала демонстрирует высокую чувствительность при оценке качества хирургического вмешательства.

Материалы и методы: В исследование включили 56 больных РПК 44-79 лет. Средний возраст 62 года, мужчин меньше, чем женщин (23/33). Среди пациентов с поздними стадиями (IVB) количество пациентов разного пола равно

(30/26). У 14 пациентов метастазы в лимфоузлы. У 9 – в печени.

Радикальность операции оценивали, исследуя циркулярные края резекции кишки (ЦКР). Важный показатель в оценке качества оперативного лечения – отсутствие опухолевых клеток в ЦКР. Изучение качества мезоректумэктомии (при фиксации в забуференном 10%-м растворе формалина с последующим исследованием серийных поперечных срезов красителем) включает оценку качества операции (ТМЕ) и ЦКР. Задачи 2го этапа: изучение ЦКР и параметров опухоли (pT).

В 3-ем этапе производилось изучение регионарных лимфоузлов на наличие лимфогенных метастазов (pN). Третий этап определяет прогноз и тактику последующего лечения.

Результаты: Во время работы был определен необходимый минимум антител для адекватного иммуногистохимического исследования РПК: Ki-67, E-cadherin, β -catenin, Col4, CK 19, 20, CDX2, villin и CK 7.

Выводы: Данные алгоритмы и подходы к исследованию РПК позволяют оценить качество оперативного лечения, точное стадирование и обнаружение морфологических неблагоприятных прогностических факторов. Полученные при исследованиях результаты позволяют прогнозировать болезнь и выбрать тактику лечения для каждого пациента с РПК.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИМФАДЕНОПАТИЙ

Суханов С. А.¹, Мекешкина Е. А.¹, Ложкин Е. А.¹, Кирьянов Н. А.²

¹БУЗ УР Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ УР

²ФГБОУ ВО Ижевская государственная медицинская академия МЗ РФ

Введение. В диагностике лимфаденопатий в ряде случаев возникают трудности разграничений фолликулярной гиперплазией лимфоидной ткани, вызванной антигенной стимуляцией, и фолликулярными лимфомами (Меликян А.Л. и соавт., 2014; Heidi L Gaddey et al., 2016; Khadega A.A. et al., 2019).

Цель исследования: определить основные отличительные особенности фолликулярной гиперплазии лимфатических узлов и фолликулярной лимфомы.

Материалы и методы исследования. Проведен морфологический анализ 64 биопсированных лимфатических узлов, в которых диагностированы – фолликулярные лимфомы (41 пациент) и реактивные изменения в виде фолликулярной гиперплазии (23 пациента). Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а иммуногистохимическое фенотипирование клеток осуществляли с использованием антител против поверхностных антигенов кластеров дифференцировки, ядерных факторов транскрипции, белков-регуляторов клеточного цикла, пролиферативной активности и апоптоза.

Результаты исследования и их обсуждение. В обеих группах размер лимфатического узла был увеличен. При гистологическом исследовании при фолликулярной гиперплазии структура лимфатического узла сохранена. Однако существенно расширяется кортикальная зона, в которой обнаруживаются лимфоидные узелки различной формы и размеров с выраженными светлыми центром размножения и расширенной мантийной зоной из малых лимфоцитов. В светлых центрах отчетливо видны картины фагоцитоза апоптозных тел и множественные фигуры митоза. А в мязотных шнурах отмечается значи-

тельное число плазматических клеток. Фолликулярная лимфома характеризуется, прежде всего, утратой нормальной структуры органа. Имеющиеся фолликулы одинаковых размеров и формы распространены равномерно по всему лимфатическому узлу. Они не имеют четких границ и типичной зоны мантии. Одновременно присутствует массивная клеточная инфильтрация капсулы и жировой клетчатки. Отличительной чертой является однотипность клеточного состава, как в фолликуле, так и вне его, отсутствие фагоцитоза апоптозных тел и небольшое число фигур митоза. Как правило, опираясь на эти морфологические критерии, патологоанатом может провести дифференциальную диагностику опухолевого и реактивного процесса. Иногда важно провести иммуногистохимическое – выявление регулятора апоптоза bcl-2 и определение маркера пролиферативной активности Ki-67. При фолликулярной гиперплазии светлые центры являются bcl-2 негативными (визуализируется окрашивание зоны мантии), в то же время в них выявляется высокая пролиферативная активность при использовании Ki-67 (до 100%, выявляет зональное распространение центробластов). Совершенно другая картина наблюдается при фолликулярной лимфоме. В клетках опухоли выражена экспрессия bcl-2 при одновременно низкой экспрессии Ki-67 (существенно ниже, чем при гиперпластическом процессе).

Выводы. Таким образом, использование гистологических и иммуногистохимических методов при исследовании биопсированных лимфатических узлов позволяет провести дифференциальную диагностику между фолликулярной гиперплазией лимфатического узла и фолликулярной лимфомой.

СРАВНЕНИЕ КЛАССИФИКАЦИОННЫХ СИСТЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПОВ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ НА ОСНОВАНИИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ

Трегубова А. В., Асатурова А. В., Кометова В. В., Редькина Н. А., Магнаева А. С.,
Шамаракова М. В., Занозин А. С.

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Актуальность: Рак яичников занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости злокачественных опухолей женской репродуктивной системы и ведущее – в структуре смертности по всему миру. Наиболее распространенным гистологическим типом рака яичников является серозная карцинома высокой степени злокачественности (СКВСЗ), которая составляет около 70% от всех злокачественных эпителиальных опухолей яичника. Кроме того, имеет место гетерогенность внутри самого гистологического типа СКВСЗ, что удалось показать с помощью молекулярно-генетических исследований (Peres L. C. et al, 2018; Murakami R. et al., 2016). Было выделено 4 молекулярных подтипа СКВСЗ, которые отличаются различным прогнозом заболевания и чувствительностью к стандартной химиотерапии, однако в рутинную практику выделение этих подтипов пока внедрить не удалось.

Целью данного исследования является оценка воспроизводимости диагнозов молекулярных подтипов СКВСЗ на основании морфологических критериев.

Материалы и методы: в исследование включены сканированные изображения гистологических срезов опухолей яичника СКВСЗ от 59 пациентов (база TCGA), которые были оценены семью независимыми патологами. Они определяли четыре молекулярных подтипа СКВСЗ (мезенхимальный, иммунореактивный, папиллоандулярный и солидный. Истинный молекулярный подтип определялся на основании молекулярных данных базы TCGA. Для выделения двух молекулярных подтипов использовали классификацию Y. Kieffer и соавт. («фиброзный тип» и «нефиброзный подтип») на основании различий в прогнозе заболевания и нарушений соответствующих сигнальных путей (Kieffer Y. et al., 2020). Оценка воспроизводимости диагнозов определялась с помощью каппы Флейса и каппы Коэна, уровень воспроизводимости определялся по шкале Альтмана (Altman D., 1999).

Результаты. Оценка воспроизводимости четырех молекулярных подтипов (по системе R. Murakami). При оценке воспроизводимости диагнозов молекулярных подтипов СКВСЗ между

всеми патологами было выявлено, что каппа Флейса составила 0,406 (95% CI, 0,372 - 0,440), $p < 0.005$. Данное значение каппы Флейса соответствует низкому уровню воспроизводимости. При оценке согласованности между каждой из пар патологов каппа Коэна составила от 0,305 до 0,605 (от низкой до хорошей). При этом, мера согласованности отдельных молекулярных подтипов была следующей: для мезенхимального подтипа: среднее значение 58,2% (от 35,7% до 78,6%); для иммунореактивного подтипа: среднее значение 19,6% (от 0,0% до 62,5%); для солидного подтипа: среднее значение 18,4 % (от 4,8% до 28,6%); для папиллоандулярного: среднее значение 26,7% (от 6,7% до 46,7%).

Оценка воспроизводимости двух молекулярных подтипов (по системе Y. Kieffer). Каппа Флейса составила 0,528 (95% CI, 0,472 - 0,585), $p < 0.005$. Данное значение каппы Флейса соответствует умеренному уровню воспроизводимости. При оценке согласованности между каждой из пар патологов каппа Коэна составила от 0,326 до 0,760 (от низкой до хорошей). При этом, мера согласованности отдельных молекулярных подтипов была следующей: для фиброзного подтипа: среднее значение 56,1% (от 28,6% до 78,6%); для нефиброзного подтипа: среднее значение 74,3 % (от 56,8% до 86,4%).

Выводы: Полученные нами данные свидетельствуют о том, что предложенные морфологические критерии не позволяют с достаточной воспроизводимостью определить молекулярный подтип для персонализированного подхода к тактике ведения пациенток с серозным раком яичника, причем выделение двух подтипов позволяет добиться более высокой воспроизводимости диагнозов, чем выделение четырех. В то же время, успешное определение молекулярного подтипа потенциально является важнейшим инструментом для улучшения прогноза общей и безрецидивной выживаемости пациенток с раком яичников. Перспективным в данном отношении можно назвать подход, совмещающий анализ гистологических изображений опухоли яичника и искусственного интеллекта.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПРОДУКТОВ СЕКРЕТОМА ГЛИОБЛАСТОМНЫХ КЛЕТОК В КАЧЕСТВЕ НЕГАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ TNF α -ЗАВИСИМОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Тыринова Т. В.^{1,3}, Мишинов С. В.², Леплина О. Ю.¹, Сахно Л. В.¹, Максимова А. А.¹,

Останин А. А.¹, Черных Е. Р.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск

²ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» МЗ РФ

³ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет»

Введение. Роль дендритных клеток (ДК) в противоопухолевом ответе связывают с их способностью презентировать опухолевые антигены и индуцировать генерацию цитотоксических Т-клеток. Недавние исследования показали, что ДК сами обладают прямым цитотоксическим действием на опухолевые клетки. Однако, при злокачественных глиомах головного мозга дендритные клетки характеризуются селективным дефектом цитотоксической активности против опухолевых клеток, чувствительных к TNF α -опосредованному лизису, тогда как у пациентов с глиомами низкой степени злокачественности такого дефекта не наблюдалось.

Целью исследования явилось изучение продукции растворимых медиаторов клетками первичных культур глиом головного мозга, а также выяснение взаимосвязи этих показателей с уровнем экспрессии мембранной формы TNF α на аутологичных ДК.

Материалы и методы. В исследование были включены супернатанты от 36 первичных глиальных линий, среди которых 5 – Grade II, 31 – Grade III-IV. Первичные культуры глиомных опухолей были получены путем механической и последующей энзиматической (0,3% коллагеназы I) дезагрегации фрагмента ткани опухоли, взятого во время операции по удалению глиальной опухоли, и последующего культивирования в полной культуральной среде, дополненной 10% FBS, обновляя питательную среду каждые 7 сут. При достижении субконфлюэнтного роста адгезивных клеток из полученных первичных культур собирали образцы кондиционных сред (7-суточные культуральные супернатанты). Концентрацию цитокинов определяли с помощью мультиплексного анализа Bio-Plex (Bio-Rad, USA) или иммуноферментным анализом (Вектор-Бест, Новосибирск). ДК получали путем культивирования прилипающей фракции моноклеарных клеток больных глиомами в присутствии GM-CSF и IFN α с последующим дозреванием с липополисахаридом. Анализ экс-

прессии мембранной формы TNF α проводили методом проточной цитометрии.

Результаты. Клетки первичных глиом с низкой степенью злокачественности (Grade II) секретировали большую часть анализируемых медиаторов на низком уровне, в том числе цитокины из группы про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α и IL-10), иммунорегуляторных цитокинов (IL-2, IL-4, IL-5, IL-15, IL-17) и ростовые факторы (G-CSF, GM-CSF, IL-7, FGFb, PDGF). Для клеток первичных культур глиом высокой степени злокачественности (Grade III-IV) были характерны высокие уровни продукции провоспалительных цитокинов (для TNF α и IL-1 β $p < 0.05$) и иммунорегуляторных цитокинов IL-4 ($p < 0.05$), IL-15 ($p < 0.05$), а также IFN γ ($p = 0.06$). Ростовые факторы продуцировались клетками глиом высокой степени злокачественности на высоком уровне (> 100 пг/мл), однако статистически значимые различия с глиомами низкой степени злокачественности регистрировались для G-CSF и VEGF ($p < 0.05$). В то же время в отношении ростового фактора TGF β 1 регистрировалась тенденция к более высокой продукции клетками глиом низкой степени злокачественности ($p = 0.11$). Оценка экспрессии мембранной формы TNF α (mTNF α) на аутологичных ДК моноцитарного происхождения у больных глиомами показала, что низкая экспрессия mTNF α на ДК статистически значимо ассоциировалась с высокой продукцией аутологичными опухолевыми клетками IL-1 β ($R_s = -0.901$; $p = 0.00003$), G-CSF ($R_s = -0.707$; $p = 0.007$) и PDGF ($R_s = -0.606$; $p = 0.038$), а также на уровне тренда – с высокой продукцией IL-17 ($R_s = -0.528$; $p = 0.06$) и IFN γ ($R_s = -0.498$; $p = 0.08$).

Выводы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, степень злокачественности глиальной опухоли ассоциируется с увеличением спектра и уровня продуцируемых цитокинов опухолевыми клетками, что в свою очередь может влиять на моноцитарные пред-

шественики, результатом чего является нарушение экспрессии TNF α на ДК больных.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00284 А.

ЭНДОМЕТРИОДНЫЕ КИСТЫ ЯИЧНИКОВ: ОСОБЕННОСТИ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ, ИНВАЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА

Унанян А. Л.¹, Николенко В. Н.^{1,2}, Геворгян М. М.³

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет);

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия,

³ГАУЗ «Энгельсский перинатальный центр» (г. Энгельс, Саратовская область, Россия)

Введение. Эндометриодные кисты яичников - одна из актуальных проблем современной гинекологии, ввиду их высокой частоты встречаемости у женщин репродуктивного возраста, возможности рецидивирования, а также онкологических рисков.

Цель исследования. Выявление клинко-патогенетических особенностей эндометриодных кист яичников

Задачи исследования:

1. Оценить экспрессии матриксных металлопротеиназ и их ингибитора при рецидивирующем и нерецидивирующем эндометриозе яичников.
2. Определить уровень антимюлерова гормона в крови у женщин с рецидивирующим и нерецидивирующим эндометриозом яичников.

Методы исследования. В процессе комплексного обследования, кроме клинко-anamnestических методов, использовались специальные

инструментальные, морфологические и иммуногистохимические методы.

Результаты исследования и выводы. В исследование были включены 139 женщин с эндометриодными кистами яичников. Полученные результаты, свидетельствуют о повышении уровня экспрессии MMP-2,-7 и -9, а также понижение уровня из ингибитора TIMP-1 в клетках рецидивирующей эндометриодной кисты по сравнению с показателями при нерецидивирующем эндометриозе ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышенной инвазивной активности при рецидивирующих эндометриодных кистах яичников и, возможно, их повышенном онкологическом потенциале.

Кроме того, уровень антимюлерова гормона в крови оказался в 3 раза ниже у женщин с рецидивирующими эндометриодными кистами, по сравнению с аналогичным показателем при нерецидивирующих кистах, что свидетельствует о снижении овариального резерва у женщин при рецидивировании эндометриодного процесса.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ РАННЕГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКА В БОЛЬШОЙ САЛЬНИК

Халикова Л. В.¹, Стрижков А. Е.^{2,3}, Геворгян М. М.⁴, Николенко В. Н.^{2,3}

¹ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

³ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

⁴ГАУЗ «Энгельсский перинатальный центр»

Введение. Рак яичников одно из распространенных онкологических заболеваний, сопровождающееся ранним метастазированием (Mikhaleva et al., 2020).

Целью исследования явилось выявление морфологических особенностей большого сальника, способствующих раннему метастазированию в сальник при раке яичников.

Материалы и методы. Исследование проводилось на больших сальниках, полученных в результате оментэктомии у 64 больных раком яичника. Гистологическое исследование проводилось на срезах и пленочных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, и импрегнированных нитратом серебра. Поверхность образцов большого сальника исследовалась на сканирующем растровом электронном микроскопе Tescan Vega-3SBH.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что большинство метастазов локализуется в области редуцированных млечных пятен большого сальника. На расположенной рядом брюшине отмечена большая плотность синовиальных люков. Указанные участки имеют хорошо развитую капиллярную сеть. К очагу патологии подходят артериола с венулой и лимфатический капилляр.

Выводы. Морфологическими предпосылками раннего метастазирования в большой сальник у больных раком яичников являются большая площадь поверхности, ранняя редукция лимфоидных образований, высокая плотность серозных люков в брюшине, особенности кровеносного и лимфатического микроциркуляторного русла прилежащих участков сальника.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СОПРОВОДИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ В ОНКОЛОГИИ

Шихлярова А. И.¹, Жукова Г. В.¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России

Введение. В настоящее время остро встает проблема создания научно - обоснованных программ и технологий онкореконструкции и сопроводительной терапии, улучшающих онкологическую ситуацию в России. Значительные профессиональные и материальные усилия, направленные на излечение опухоли, до сих пор не поддерживаются комплексными мерами по пролонгированию полученного противоопухолевого эффекта, восстановлению здоровья, улучшению продолжительности и качества жизни. Это создает определенный диссонанс в реализации дорогостоящей высокотехнологичной медицинской помощи онкобольным на этапах лечения с последующим попаданием пациентов в зону самовосстановления. Такая незавершенность специфической терапии опухолей нуждается в применении знаний закономерностей важнейшей составляющей здоровья – неспецифической резистентности, уникальным информационным носителем которых является теория адаптационных реакций, раскрывающая патофизиологические механизмы регуляции адаптивных систем организма.

Цель. Приближение теоретических основ неспецифической адаптивной регуляции организма-опухоленосителя и возможность перезагрузки интегральных патогенетических механизмов на физиологический путь повышения противоопухолевой резистентности.

Материалы и методы. Используются фундаментальные основы теории общих неспецифических адаптационных реакций организма, приведены экспериментальные данные по эффективности противоопухолевого влияния активационной терапии на примере запрограммированных алгоритмов электромагнитных полей, примеры трансляционной магнитотерапии в клинике в комплексном лечении рака легкого, мочевого пузыря, глиобластом мозга.

Результаты. Предложены подходы к повышению эффективности сопроводительной терапии опухолей на основе теории адаптационных реакций, включающей стратегию, принципы и технологии повышения неспецифической противоопу-

холевой резистентности организма. На основе многолетних экспериментальных исследований влияния биотропных параметров электромагнитных полей на рост опухоли установлены патоморфологические и биохимические корреляты в органах тимико-лимфатической, гормональной и нервной систем, а также структуры опухоли при эффективных режимах воздействия. Полученный в эксперименте информативный блок патогенетически значимых биометрических параметров послужил обоснованием механизмов реализации повышения неспецифической и противоопухолевой сопротивляемости для внедрения в клинику. В рамках трансляционной медицины предложены способы управляемой электромагнитотерапии в комплексном лечении рака легкого, молочной железы, мочевого пузыря, злокачественных опухолей головного мозга. Разработаны и внедрены запрограммированные режимы физических и фармакологических факторов для использования на этапах комплексного лечения злокачественных опухолей.

Выводы. Организм не теряет возможности реализации перехода на путь физиологического регулирования при всей тяжести патофизиологических изменений при росте опухоли и агрессивном воздействии специфической противоопухолевой терапии. Применяемые способы комплексной сопроводительной терапии могут быть обогащены практикой управляющего активационного воздействия любой природы. Этому способствуют уже раскрытые типологические особенности различных реакций, разработанные стратегии и цифровые запрограммированные режимы воздействия, простые и адекватные критерии оценки состояния организма, которые могут составить опорные точки для разработки системы научно-обоснованной сопроводительной терапии как на этапах оказания стационарной, так и амбулаторной помощи онкобольным. Значительную помощь в продвижении технологий активационной терапии может оказать телемедицина, возможности которой способствуют контролируемым назначениям и объективной оценке результатов сопроводительной терапии.