

На правах рукописи

ХАРЛОВА

Ольга Андреевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ
КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

14.03.02 – патологическая анатомия

Москва
2018

Работа выполнена в федеральном
государственном образовательном учреждении высшего образования
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Научный руководитель:

заведующий отделом клинической патологии
медицинского научно-образовательного
центра ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет имени
М. В. Ломоносова», доктор медицинских наук Мальков Павел Георгиевич

Официальные оппоненты:

ведущий научный сотрудник
патологоанатомического отделения ГБУЗ
«Московский областной научно-
исследовательский клинический институт имени
М. Ф. Владимирского» Минздрава Московской
области, доктор медицинских наук Гаганов Леонид Евгеньевич

заведующая лабораторией клинической
морфологии ФГБНУ НИИ морфологии человека,
доктор медицинских наук, профессор Михалева Людмила Михайловна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования Московский государственный медико-стоматологический университет
имени А. И. Евдокимова Минздрава России.

Защита диссертации состоится Г. в на заседании
специализированного совета Д208.072.04 при ФГБОУ ВО Российский
национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова
(117997 Москва, ул. Островитянова, 1).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеках ФГБУ ВО Российский
национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова
(117997 Москва, ул. Островитянова, 1) и факультета фундаментальной медицины
МГУ имени М. В. Ломоносова (119192 Москва, Ломоносовский просп., 27, к.1).

Автореферат разослан Г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Леонова Людмила Васильевна

Актуальность проблемы и степень разработанности темы

Среди предопухолевых образований толстой кишки обсуждаются классические аденомы (CLA) – тубулярные (AT), тубуло-ворсинчатые (ATV) и ворсинчатые, и зубчатые образования – гиперпластические полипы (HP), зубчатые аденомы/полипы на широком основании (SSA/P) и традиционные зубчатые аденомы (TSA) [Snover D. C., 2010].

Морфологические критерии зубчатых образований определены недостаточно четко [Snover D. C., 2010]. Основным дифференциальным морфологическим критерием между SSA/P и HP является расширение базальных отделов крипт вдоль мышечной пластинки слизистой оболочки, архитектуру которых, с одной стороны, не всегда возможно оценить в связи с объемом материала и его ориентацией в препарате. С другой стороны, степень расширения и минимальное необходимое количество диагностических крипт не регламентировано. Критерием TSA является наличие эктопических крипт, расположенных перпендикулярно к основной оси крипты, и/или эозинофильных изменений цитоплазмы, однако необходимое для заключения количество эктопических крипт, их выраженность и необходимость наличия обоих критериев не определены. В связи с отсутствием регламентированных критериев зубчатых образований возникает морфологическая гетерогенность, препятствующая сопоставлению результатов опубликованных исследований, что побуждает к уточнению морфологических критериев и поиску дополнительных критериев отличия предопухолевых образований друг от друга.

Оценка иммуногистохимических характеристик предопухолевых образований толстой кишки представляется актуальной как в плане дифференциальной диагностики, так и для уточнения биологических свойств и взаимосвязей различных типов предопухолевых образований. В качестве маркеров могут быть использованы белок-супрессор опухолевого роста p53, анти-апоптотический фактор bcl-2, компоненты и модуляторы Wnt-сигнального пути бета-катенин и CDX2, а также CK20 и маркер пролиферативной активности Ki67.

Белок p53 – индуцируемый стрессом транскрипционный фактор, который регулирует работу большого количества генов, контролирующих сигнальные процессы в клетке. В зависимости от конкретной ситуации в условиях клеточного стресса, p53 может вызывать остановку клеточного цикла, апоптоз или индуцировать покоящееся состояние клеток [Li X. L., 2015]. В большинстве исследований, посвященных изучению экспрессии p53, исследованные группы не соответствовали современной классификации или включали не все типы предопухолевых образований.

Экспрессия протоонкогена и анти-апоптотического фактора bcl-2 контролирует выживаемость [Dai H., 2016] и увеличивает продолжительность жизни клеток [Stoian M., 2014]. Данные об экспрессии bcl-2 в зубчатых образованиях в литературе немногочисленны и отрывочны.

Транскрипционный фактор бета-катенин ограничивает дифференцировку клеток, являясь центральным компонентом канонического Wnt-сигнального пути [Bourroul, G.M., 2016]. Несмотря на признанную роль ядерной аккумуляции бета-катенина в процессе трансформации аденомы в карциному, данные о ядерной экспрессии бета-катенина в CLA довольно противоречивы, как и данные в отношении зубчатых образований. Работы, посвященные сравнению CLA или TSA с другими группами предопухолевых образований, крайне немногочисленны, отсутствуют данные о локализации позитивных ядер.

CDX2 экспрессируется практически исключительно эпителием желудочно-кишечного тракта, основной функцией является контроль дифференцировки кишечного эпителия [Li M. K., 2004]. Работы, посвященные изучению экспрессии CDX2 в предопухолевых образованиях толстой кишки, немногочисленны [Dawson H., 2014; Kim J. H., 2015], данные об особенностях экспрессии CDX2 отрывочны.

CK20 экспрессируется преимущественно мембранами эпителия желудочно-кишечного тракта и происходящими из него опухолям. В ряде исследований описан специфический для SSA/P характер экспрессии CK20, позволяющий дифференцировать SSA/P и HP, что требует дополнительного изучения. В отношении экспрессии CK20 в CLA и TSA данные отрывочны. Нами не было обнаружено ни одной работы, в которой учитывалась бы интенсивность окрашивания CK20.

Уровень пролиферативной активности на основании экспрессии Ki67 в разных типах предопухолевых образований толстой кишки оценен в единичных работах [Jiao Y. F., 2008; Fujimori Y., 2012]. Есть данные о низком индексе пролиферативной активности в HP и SSA, о преимущественной экспрессии маркера в эктопических криптах TSA и о более высоком уровне Ki67 в AT и ATV [Jiao Y. F., 2008; Baker A.M., 2015; Bettington M. L., 2015].

Для детальной оценки характера экспрессии каждого из маркеров считаем целесообразным определить не только наличие экспрессии каждого маркера, но и количество прореагировавших клеток, интенсивность окрашивания, характер распределения окрашенных клеток в крипте. Мы полагаем, что использование нескольких критериев для оценки характера экспрессии каждого маркера позволит не только определить диагностическую ценность каждого маркера, но и выявить существование биологических взаимосвязей между разными группами предопухолевых образований толстой кишки.

Цель исследования

Изучить морфологические и иммуногистохимические критерии дифференциальной диагностики предопухолевых образований толстой кишки.

Задачи исследования

1. Обосновать уточнения к классификации гиперпластических полипов и зубчатых аденом/полипов на широком основании с учетом морфологических характеристик и особенностей экспрессии бета-катенина, p53, bcl-2, CDX2, CK20 и Ki67.

2. Обосновать уточнения к классификации традиционных зубчатых аденом и классических аденом на основании морфологических характеристик и особенностей экспрессии бета-катенина, p53, bcl-2, CDX2, CK20 и Ki67.

3. Оценить обоснованность выделения зубчатых образований в отдельную классификационную рубрику на основании клиничко-морфологических данных и результатов иммунофенотипирования.

4. Оценить возможности применения бета-катенина, p53, bcl-2, CDX2, CK20 и Ki67 в качестве дифференциально-диагностических маркеров предопухолевых образований толстой кишки.

Научная новизна исследования

В работе впервые изучены, подробно описаны и проиллюстрированы морфологические и иммуногистохимические характеристики предопухолевых образований толстой кишки.

Впервые проведено детальное сравнение HP и SSA/P по формальным морфологическим признакам, а также исследована частота встречаемости и наличие взаимосвязей между морфологическими признаками в объединенной группе «зубчатые образования цитоплазматического типа», включающей HP и SSA/P. Показана невозможность определения достоверной морфологической границы между HP и SSA/P; получены данные, свидетельствующие в пользу существования непрерывного биологического континуума в группе зубчатых образований цитоплазматического типа.

Также нами впервые проведено детальное сравнение морфологических характеристик TSA и классических аденом. Эктопические крипты и эозинофильные изменения цитоплазмы, являющиеся диагностическими признаками TSA, выявлены на ограниченных участках тубулярных и тубуло-ворсинчатых аденом. Частота выявления дополнительных морфологических признаков, параллельно с размером образований, нарастала в ряду AT – ATV – TSA.

При исследовании характера экспрессии иммуногистохимических маркеров проведено сравнение всех групп предопухолевых образований по нескольким критериям для каждого маркера, что позволило не только оценить диагностический потенциал каждого из маркеров, но и охарактеризовать биологические взаимосвязи между разными типами предопухолевых образований. HP и SSA/P не отличались ни по одному из исследованных критериев. Характер экспрессии bcl-2, CK20 и Ki67 ставит под сомнение опухолевую природу этих образований. С другой стороны,

характер экспрессии CDX2 позволяет предположить участие специфических механизмов в развитии HP и SSA/P. TSA и ATV обладают схожими результатами по подавляющему большинству проанализированных критериев. Ни один из исследованных маркеров не обладает достаточными диагностическими свойствами для использования в рутинной практике.

По совокупности клинических данных, результатов морфологического анализа и иммунофенотипирования предложено сокращение существующей классификации предопухолевых образований толстой кишки до двух групп: «зубчатые образования цитоплазматического типа», объединяющей HP и SSA/P, и «классические аденомы», включающие тубулярные и тубуло-ворсинчатые аденомы, в том числе с эктопическими криптами. Данное укрупнение подкреплено достоверным сходством образований в составе групп по большинству проанализированных критериев и достоверными различиями в характере экспрессии всех исследованных маркеров между «зубчатыми образованиями цитоплазматического типа» и «классическими аденомами».

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложена упрощенная классификация предопухолевых образований толстой кишки, включающая в себя две группы, отличающиеся клинико-морфологическими и иммуногистохимическими характеристиками: «классические аденомы» (включает AT и ATV, в том числе с эктопическими криптами) и «зубчатые образования цитоплазматического типа» (объединяет HP и SSA/P). Данное объединение основано на анализе взаимосвязей между клиническими и морфологическими признаками, изучении характера экспрессии иммуногистохимических маркеров. Упрощенная классификация устраняет необходимость введения дополнительных морфологических критериев для дифференциального диагноза предопухолевых образований толстой кишки, а также отражает биологическое родство HP с SSA/P, а TSA с классическими аденомами.

Ни один из исследованных иммуногистохимических маркеров не проявил достаточно специфических свойств для дифференциального диагноза HP и SSA/P, TSA и классических аденом. При необходимости дифференциального диагноза между зубчатыми образованиями цитоплазматического типа и классическими аденомами рекомендовано использование маркеров bcl-2 и Ki67 в связи с наиболее выраженными различиями в характере экспрессии – экспрессия bcl-2 в зубчатых образованиях цитоплазматического типа отсутствовала или ограничивалась базальными отделами крипт, в большинстве классических аденом отмечалось расширение зоны экспрессии за пределы базальных отделов крипт; Ki67-позитивные клетки в зубчатых образованиях цитоплазматического типа локализованы преимущественно в нижней половине крипт, в классических аденомах – в верхней половине и на всем протяжении крипт.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа представляет собой патологоанатомическое исследование биологического материала, полученного при эндоскопической колоноскопии, когорты пациентов с предопухолевыми образованиями толстой кишки с целью уточнения возможностей дифференциальной диагностики с использованием морфологического и иммуногистохимического методов.

Объект исследования: материал после диагностических биопсий плоских и полиповидных образований толстой кишки, полученный в ходе эндоскопических исследований, материал после эндоскопических мукозальных резекций и эндоскопических полипэктомий.

Предмет исследования: молекулярно-биологические характеристики и строение предопухолевых образований толстой кишки.

Дизайн исследования, в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской организации, отражен в протоколе, одобренном локальным этическим комитетом Федерального бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени И. М. Ломоносова». Автор исследования непосредственного участия в работе с лабораторными животными или пациентами не принимала. Имеющиеся данные деперсонализированы и являются архивными. В работе для получения и анализа данных использовались морфологический, иммуногистохимический и статистический методы.

Положения, выносимые на защиту

1. По результатам анализа клинических и морфологических характеристик в объединенной группе CSL, включающей HP и SSA/P, установить достоверную границу невозможно в связи со сложностью взаимосвязей между морфологическими признаками и неравномерностью изменения морфологических характеристик в зависимости от выраженности расширения базальных отделов крипт. Взаимосвязь между наличием дисплазии и степенью расширения базальных отделов крипт отсутствует ($p > 0,05$). При анализе результатов иммуногистохимических реакций с бета-катенином, p53, bcl-2, CDX2 и CK20 между HP и SSA/P не было выявлено достоверных различий ни по одному из исследованных критериев; пролиферативная активность в нижней половине расширенных крипт SSA/P ниже (индекс Ki67 – 35,8%), чем в нерасширенных криптах SSA/P (индекс Ki67 – 66,2%) и HP (индекс Ki67 – 63,0%, $p < 0,05$).

2. Характерные для TSA морфологические феномены (эктопические крипты и эозинофильные изменения эпителия) выявлены в AT (в 1% и 1,3% случаев соответственно) и ATV (в 6,1% и 10,6% случаев соответственно). Частота выявления большинства исследованных морфологических признаков, за исключением дисплазии, возрастает в ряду AT – ATV – TSA ($p < 0,05$). Анализ результатов иммуногистохимических реакций с бета-катенином, p53, CDX2, bcl-2,

СК20 и Ki67 выявил отсутствие достоверных различий между АТ и TSA – по 9 из 17 исследованных критериев, между АТ и АТV – по 11 из 17 исследованных критериев, между АТV и TSA – по 12 из 17 исследованных критериев ($p < 0,05$).

3. По совокупности клинико-морфологических данных и результатов иммунофенотипирования выявлена несхожесть TSA и НР, TSA и SSA/P по подавляющему большинству исследованных критериев, за исключением доли стелющихся образований среди TSA и SSA/P (9,8% и 8,9% соответственно), соотношения проксимально и дистально расположенных образований среди TSA (30,4% и 69,6%) и НР (38,4% и 61,6%), интенсивности окрашивания СК20 среди TSA, НР и SSA/P ($p > 0,05$), в связи с чем объединение НР, SSA/P и TSA в группу «зубчатые образования» представляется нецелесообразным.

4. Характер экспрессии исследованных иммуногистохимических маркеров (бета-катенин, p53, CDX2, bcl-2, СК20, Ki67) не позволяет использовать их для дифференциального диагноза НР и SSA/P, TSA и АТV. Для дифференциального диагноза классических аденом или TSA и CSL наиболее обоснованным представляется использование bcl-2 и Ki67. Экспрессия bcl-2 отсутствует в 60,7% НР и 80,0% SSA/P, ограничена базальными отделами крипт в 35,7% НР и 20,0% SSA/P; в классических аденомах (73,3% АТ и 100% АТV) и 86,7% TSA отмечено расширение зоны экспрессии за пределы базальных отделов крипт. Ki67-позитивные клетки во всех CSL локализованы в нижней половине крипт, в классических аденомах и TSA – в верхней половине или на всем протяжении крипт.

Публикации и апробация работы

По теме исследования за период с 2014 по 2018 опубликовано 29 работ, из них 13 журнальных статей (в том числе 11 в журналах из списка, рекомендованного ВАК), 16 – в материалах конгрессов и конференций.

Результаты исследования представлены на XXVII European Congress of Pathology (Belgrad, 8 сентября, 2015), VI международном молодежном медицинском конгрессе (Санкт-Петербург, 2-4 декабря, 2015), Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2016» (Москва, 11-15 апреля 2016), VII конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «Шаг в завтра» (Москва, 30 апреля, 2016), II Петербургском онкологическом форуме (Санкт-Петербург, 22-24 июня, 2016), XXVIII European Congress of Pathology (Cologne, 25-29 сентября, 2016), XX Российском онкологическом конгрессе (Москва, 15-17 ноября, 2016), Московском эндоскопическом обществе (Москва, 25 января, 2017), V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 1-4 июня, 2017), III всероссийской конференции «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека» (Челябинск, 23-24 марта 2018).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

В работе использован материал после биопсий полиповидных образований толстой кишки, эндоскопических мукозальных резекций и эндоскопических полипэктомий. Готовые гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, были исследованы при помощи светового микроскопа Leica DM 4000B/DFC495 (Germany). Злокачественные новообразования толстой кишки, а также образования с фокусами дисплазии тяжелой степени были исключены из исследования на этапе отбора материала. В исследование включены образцы 1771 образования (табл. 1). Из дальнейшего исследования были исключены AV – в связи с малым количеством наблюдений, и USP – в связи с ограниченными возможностями морфологической оценки. В результате в исследование были включены образцы 1638 образований.

Таблица 1. Распределение материала согласно классификации ВОЗ предопухолевых образований толстой кишки

Рубрика в классификации ВОЗ	Количество наблюдений	Доля	Проведено ИГХ исследование
AT	896	50,6%	30
ATV	198	11,2%	28
AV	14	0,8%	–
HP	315	17,8%	28
SSA/P	159	9,0%	30
TSA	70	3,9%	15
USP	119	6,7%	–
Итого:	1771	100%	131

На первом этапе работы был проведен анализ вспомогательных морфологических характеристик. С учетом типа предопухолевого образования были оценены наличие и тип зубчатости; степень расширения зоны зубчатости; наличие и степень расширения базальных отделов крипт; наличие ветвления, почкования и инвертированного роста крипт; наличие атрофии, «дрожания», эозинофильных изменений и дисплазии эпителия; наличие и степень выраженности эктопических крипт; наличие и локализация митозов.

На втором этапе было проведено иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к маркеру пролиферативной активности (Ki-67), анти-апоптотическому белку bcl-2, транскрипционным факторам (бета-катенин, p53) и маркерам кишечной дифференцировки (CDX2, CK20). С отобранных блоков изготавливали срезы толщиной 4 мкм, монтировали их на высокоадгезивные полилизинные стекла (Menzel, Germany). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов проводили при помощи буфера Dewax and HIER Buffer (pH 6,0 и pH 8,0, Thermo, UK) в модуле предобработки PT-Module

(Thermo, UK). Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме с помощью автостейнера Thermo Scientific Lab Vision Autostainer 480S (Thermo, UK). В качестве системы детекции применяли систему EnVision Flex (Dako, Denmark) с DAB-хромогеном. В каждой серии препаратов использовались соответствующие положительные и отрицательные контроли.

Оценку экспрессии **Ki67** проводили по общепринятой методике путем подсчета среднего количества положительно окрашенных ядер любой интенсивности в 3 криптах, расположенных в разных участках препарата при увеличении $\times 40$, выраженного в процентах. Отдельно оценивалась экспрессия **Ki67** в верхней и нижней половинах криптов, в расширенных и нерасширенных криптах SSA/P, эктопических криптах TSA.

Общепринятой системы оценки остальных исследованных маркеров не существует. Для оценки ядерной экспрессии **бета-катенина**, **p53** и **CDX2** учитывалось наличие и интенсивность окрашивания (отсутствует, слабое, умеренное или выраженное); среднее количество окрашенных ядер на 100 клеток препарата в 3 полях зрения при увеличении объектива $\times 40$ в зонах с наибольшей экспрессией, выраженное в процентах; преимущественная локализация окрашенных ядер (верхняя/нижняя половина или все протяжение крипта) в зонах с наибольшей экспрессией. Значимой реакцией для **p53** мы приняли окрашивание 5% и более клеток умеренной или выраженной интенсивности, нормальным уровнем экспрессии **CDX2** было принято считать окрашивание 90% и более ядер умеренной или выраженной интенсивности.

Для оценки экспрессии **bcl-2** учитывалось наличие и интенсивность окрашивания (отсутствует, слабое, умеренное или выраженное); преимущественная локализация окрашенных клеток (базальные отделы, базальные отделы и нижняя половина крипта или все протяжение крипта). За нормальный уровень экспрессии было принято наличие немногочисленных слабо окрашенных клеток в базальных отделах крипта.

Для оценки экспрессии **CK20** учитывалось наличие и интенсивность окрашивания по шкале от 0 до 5 (0 – отрицательное; 1 – очень слабое; 2 – слабое; 3 – умеренное; 4 – яркое; 5 – очень яркое) в связи с большим разбросом показателей; преимущественная локализация окрашенных клеток (поверхностная, верхняя 1/3 крипта, верхние 2/3 крипта или все протяжение крипта); характер окрашивания (диффузный или очаговый).

Препараты изучали при помощи светового микроскопа Leica DM 4000B (Leica Microsystems, Germany) с использованием цифровой камеры высокого разрешения Leica DFC 495 и программы Leica Application Suite 8.0 (Leica Microsystems, Germany).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы PASW Statistics 18. Уровень значимости (p) принимали равным 0,05.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предопухолевые поражения толстой кишки фактически представляют собой образования трех групп: поражения с цитоплазматическим типом зубчатости (CSL, включающие HP и SSA/P), поражения с эктопическим типом зубчатости (TSA) и классические аденомы (CLA, включающие AT, ATV и AV).

Одной из основных проблем в дифференциальной диагностике предопухолевых образований толстой кишки является дифференциальный диагноз между HP и SSA/P. В первую очередь обращает на себя внимание некоторое биологическое сходство. При анализе клинических данных было отмечено, что возраст пациентов и макроскопические типы образований достоверно не отличалась (табл. 2). Особое внимание было уделено анализу и сравнению морфологических характеристик HP и SSA/P – по большинству критериев выявлены достоверные различия. Исключение составили вид образования по типу эпителия, почкование крипт и инвертированный рост (табл. 2).

Таблица 2. Основные характеристики HP и SSA/P

Анализируемый критерий	HP	SSA/P	p
Возраст, лет	52,7±1,7	55,2±2,3	>0,05
Макроскопический тип			
– полиповидные (0-I класс)	22,5%	15,8%	>0,05
– плоские (0-II класс)	77,5%	77,3%	
– стелющиеся (LST-класс)	–	8,9%	
Локализация			
– проксимальная	39,0%	74,8%	<0,05
– дистальная	61,0%	25,2%	
Размер, мм	5,19±0,26	7,71±0,56	<0,05
Тип эпителия			
– микровезикулярный	88,3%	88,1%	>0,05
– богатый бокаловидными клетками	7,0%	5,0%	
– бедный муцином	4,8%	6,9%	
Расширение зоны зубчатости	32,1%	68,5%	<0,05
Наличие атрофии	30,5%	45,9%	<0,05
Наличие митозов	59,0%	44,6%	<0,05
Почкование крипт	3,2%	5,0%	>0,05
Ветвление крипт	8,6%	25,2%	<0,05
Инвертированный рост	4,8%	7,5%	>0,05
Эозинофильные изменения	–	8,8%	–
Дисплазия эпителия	–	21,4%	–
Всего (n):	315	159	–

Для решения вопроса о принадлежности образования к группе HP или SSA/P ВОЗ [Snover D. C., 2010] рекомендует считать основным критерием расширение базальных отделов крипт, причем достаточная степень расширения и/или количество крипт не определено. В ходе работы в 21,6% HP было отмечено наличие крипт с сомнительным расширением базальных отделов, а группа SSA/P разнородна по количеству и степени расширения базальных отделов крипт, в 11,4% SSA/P единственным диагностическим критерием послужило наличие

дисплазии эпителия, в 1,3% - эозинофильные изменения эпителия. В связи с этим для повторного морфологического анализа НР и SSA/P были объединены в группу CSL (n=466) с последующим разделением ее на подгруппы на основании архитектуры базальных отделов крипт (табл. 3). Проведенный нами анализ морфологических характеристик CSL позволил выявить, что граница достоверных различий между сформированными подгруппами проходит на разных уровнях:

1) на основании частоты выявления расширенной зоны зубчатости CSL с сомнительным расширением базальных отделов крипт и CSL с достоверным расширением 1 или 2 и более крипт можно объединить в одну группу, достоверно отличающуюся от CSL без расширения базальных отделов крипт и CSL с горизонтальным ростом базальных отделов крипт ($p < 0,05$) и занимающую промежуточное положение (табл. 3).

2) в частоте выявления атрофии достоверные отличия выявлены между CSL без расширения базальных отделов крипт (27,5%) и CSL с сомнительным расширением базальных отделов крипт (42,6%), CSL с расширением 2 и более крипт (55,7%) и CSL с горизонтальным ростом базальных отделов крипт (47,9%), что позволяет объединить в одну группу CSL с наличием сомнительного и достоверного расширения базальных отделов крипт, в том числе с горизонтальным ростом базальных отделов крипт.

3) по наличию митозов достоверно отличались только CSL без расширения базальных отделов крипт (61,5%) от CSL с расширением базальных отделов одной или двух и более крипт (37,0% и 42,4% соответственно). CSL с наличием сомнительного расширения базальных отделов крипт и CSL с горизонтальным ростом базальных отделов крипт занимают промежуточное положение (54,4% и 52,1% соответственно), не отличаясь достоверно от других типов CSL.

4) на основании частоты выявления эозинофильных изменений эпителия CSL без расширения базальных отделов крипт (0,4%), CSL с сомнительным расширением базальных отделов крипт (0%) и CSL с достоверным расширением базальных отделов 1 (7,4%) и 2 и более крипт (1,6%) можно объединить в одну группу, достоверно отличную от CSL с горизонтальным ростом базальных отделов крипт (14,6%).

5) по наличию ветвления большинство типов CSL отличались между собой. Условно в одну группу можно объединить CSL без расширения базальных отделов крипт (5,3%), CSL с сомнительным расширением (19,1%) и CSL с достоверным расширением базальных отделов 1 крипты (7,4%), в другую – CSL с достоверным расширением базальных отделов 2 и более крипт (32,8%) и горизонтальным ростом базальных отделов крипт (35,4%).

6) по размеру большинство типов CSL отличались между собой, выявленных характер различий не позволяет объединить CSL в несколько групп, отмечается постепенное увеличение размера CSL, сонаправленное с выраженностью расширения базальных отделов крипт (табл. 3).

**Таблица 3. Клинические и морфологические характеристики
зубчатых образований цитоплазматического типа в зависимости от архитектуры базальных отделов крипт**

Признак	Без расширения базальных отделов крипт	С сомнительным расширением базальных отделов крипт	С достоверным расширением базальных отделов 1 крипты	С достоверным расширением базальных отделов 2 и более крипт	С горизонтальным ростом базальных отделов 1 и более крипт	Всего:
Локализация: – проксимальная – дистальная	39,7% 60,3%	42,6% 57,4%	77,8% 22,2%	73,8% 26,2%	75,0% 25,0%	50,4% 49,6%
Эндоскопический тип: – полиповидные (0-I) – плоские (0-II) – стелющиеся (LST)	79,3% 20,7% 0%	75,0% 25,0% 0%	75,0% 20,8% 4,2%	78,6% 14,3% 7,1%	65,1% 14,0% 20,9%	77,0% 19,8% 3,2%
Расширение зоны зубчатости	24,0%	60,3%	66,7%	72,1%	91,7%	45,1%
Эозинофильные изменения эпителия	0,4%	0%	7,4%	1,6%	14,6%	2,4%
Почкование крипт	3,1%	2,9%	0%	8,2%	6,3%	3,9%
Ветвление крипт	5,3%	19,1%	7,4%	32,8%	35,4%	14,2%
Наличие митозов	61,5%	54,4%	37,0%	42,6%	52,1%	55,6%
Дисплазия эпителия	5,7%	0%	7,4%	9,8%	10,4%	6,0%
Наличие атрофии	27,5%	42,6%	40,7%	55,7%	47,9%	36,3%
Инвертированный рост	4,2%	5,9%	0%	11,5%	10,4%	5,8%
Средний размер, мм	5,3 ± 0,3	5,4 ± 0,5	6,2 ± 0,9	7,8 ± 0,9	8,6 ± 0,9	–
Итого (n):	262	68	27	61	47	466

По исследованным в работе морфологическим признакам граница достоверных различий проходит на разных уровнях, что может свидетельствовать о существовании единого биологического континуума HP–SSA/P. По мере развития наряду с увеличением размера происходит постепенное расширение зоны зубчатости; увеличение количества крипт с расширением базальных отделов и выраженности расширения; нарастание частоты ветвления крипт и атрофии.

Отдельно следует отметить, что достоверных различий по частоте выявления дисплазии между группами с разной степенью расширения базальных отделов крипт не выявлено ($p > 0,05$). Поскольку наличие дисплазии является клинически значимой морфологической характеристикой, возникает вопрос о целесообразности выделения HP и SSA/P. Среди всех проанализированных клинико-морфологических характеристик статистически значимая взаимосвязь была выявлена между наличием дисплазии и более крупным размером образования, проксимальной локализацией, наличием эозинофильных изменений.

При перекрестном сравнении частоты встречаемости морфологических и клинических характеристик было выявлено, что проксимально расположенные CSL чаще имеют плоский вид, более крупный размер, в них чаще выявляется расширение базальных отделов и ветвление крипт, атрофия и дисплазия эпителия.

Учитывая, что при перекрестном сравнении частоты встречаемости морфологических признаков в CSL также были выявлены ассоциации разной силы между расширением базальных отделов крипт, расширением зоны зубчатости, ветвлением крипт, наличием атрофии, дисплазии и эозинофильных изменений эпителия в разных сочетаниях, мы полагаем, что использование расширения базальных отделов крипт в качестве основного диагностического критерия представляется недостаточно обоснованным, а выделение HP и SSA/P в качестве отдельных классификационных единиц – нецелесообразным.

При сравнении результатов иммунофенотипирования между HP и SSA/P (рис. 1-4) достоверные отличия выявлены только в индексе Ki67 для верхней половины крипт, отмечена тенденция к менее выраженной экспрессии bcl-2, CDX2 и Ki67 в SSA/P (табл. 4).

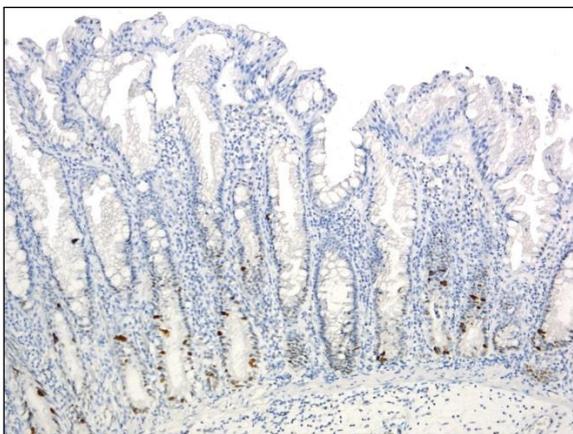


Рис. 1. Значимая экспрессия p53 в HP (об.х10)

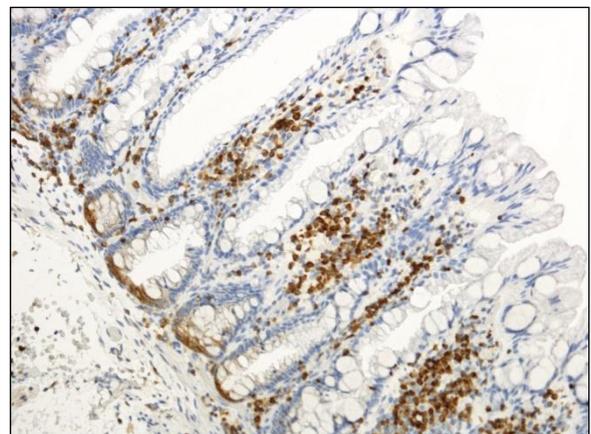


Рис. 2. Нормальный уровень экспрессии bcl-2 в SSA/P (об.х20)

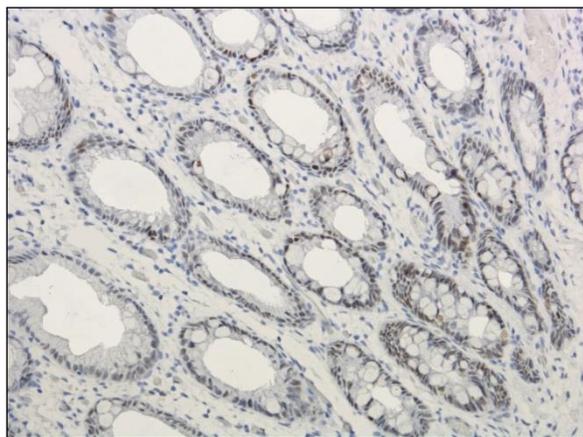


Рис. 3. Экспрессия CDX2 слабой интенсивности в HP (об.х20).

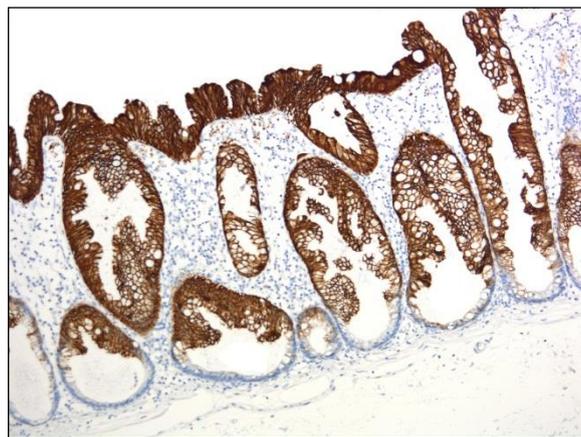


Рис. 4. Экспрессия CK20 в SSA/P: интенсивность 4 балла, окрашены верхние 2/3 крипт (об.х10)

Таблица 4. Характер экспрессии иммуногистохимических маркеров в HP и SSA/P

Маркер	Характеристика	HP	SSA/P	p
p53	Значимая реакция	25,0%	30,0%	>0,05
	Средний процент окрашенных ядер	6,6%	6,0%	>0,05
	Локализация:			
	– нижняя ½ крипт	100%	100%	>0,05
– верхняя ½ крипт	0%	0%		
– все протяжении крипт	0%	0%		
Bcl-2	Отсутствие экспрессии	60,7%	80,0%	>0,05
	Интенсивность окрашивания:			
	– слабая	39,3%	20,0%	>0,05
	– умеренная	0%	0%	
Локализация реакции:				
– базальные отделы крипт	35,7%	20,0%	>0,05	
– нижняя ½ крипт	3,6%	0%		
– все протяжении крипт	0%	0%		
Бета-катенин	Ядерная экспрессия	0%	0%	>0,05
CDX2	Нормальный уровень экспрессии	57,1%	53,3%	>0,05
	Экспрессия снижена за счет:			
	– количества окрашенных клеток	3,6%	0%	>0,05
	– интенсивности окрашивания	14,3%	16,7%	
– количества окрашенных клеток и интенсивности окрашивания	25,0%	30,0%		
Средний процент окрашенных ядер	83,9%	66,0%	>0,05	
CK20	Локализация реакции:			
	– поверхностная	0%	0%	>0,05
	– верхняя 1/3 крипт	0%	0%	
	– верхние 2/3 крипт	100%	100%	
	– все протяжении крипт	0%	0%	
	Интенсивность окрашивания:			
– 1 балл	0%	0%	>0,05	
– 2 балла	10,7%	0%		
– 3 балла	42,9%	63,3%		
– 4 балла	46,4%	36,7%		
– 5 баллов	0%	0%		
Ki67	Средний процент окрашенных ядер:			
	– верхняя ½ крипт	1,0%	0%	<0,05
	– нижняя ½ нерасширенных крипт	63,0%	66,2%	>0,05
	– нижняя ½ расширенных крипт	–	35,8%	–

Полученные результаты свидетельствуют о биологическом сходстве HP и SSA/P, что подтверждает наши предположения о существовании единого континуума CSL и нецелесообразности выделения HP и SSA/P в качестве отдельных классификационных единиц.

Согласно классификации ВОЗ 2010 года [Snover D. C., 2010] TSA относятся к зубчатым образованиям. Однако при анализе морфологических характеристик обращает на себя внимание схожесть TSA и CLA – все морфологические признаки, описанные нами в TSA, встречаются также в AT и ATV. Отмечается достоверное нарастание частоты выявления почкования и ветвления крипт, «дрожания» эпителия, эозинофильных изменений эпителия, а также размера образований в ряду AT – ATV – TSA (табл. 5). Во всех TSA зафиксировано наличие ворсинчатого компонента. В 1% AT и 6,1% ATV выявлены единичные структуры, схожие по строению с эктопическими криптами, что ставит под сомнение диагностическую ценность эктопических крипт.

Таблица 5. Основные морфологические характеристики AT, ATV и TSA.

Анализируемый критерий	AT	ATV	TSA
Размер, мм	6,19±0,29	7,71±0,56	14,39±2,21
Макроскопический тип			
– полиповидные (0-I класс)	62,7%	78,5%	60,8%
– плоские (0-II класс)	37,3%	18,8%	29,4%
– стелющиеся (LST-класс)	0%	2,7%	9,8%
Эктопические крипты:			
– сомнительные	1,3%	6,1%	0%
– формирующиеся	0%	0%	61,4%
– сформированные	0%	0%	38,6%
Эозинофильные изменения эпителия:			
– очаговые	1,3%	10,6%	57,1%
– диффузные	0%	0%	12,9%
Почкование крипт	37,5%	45,5%	67,1%
Ветвление крипт	20,0%	22,7%	51,4%
«Дрожание» эпителия	9,7%	18,1%	68,6%
Дисплазия эпителия	100%	100%	82,9%
Ворсинчатый компонент	0%	100%	100%
Всего (n):	896	198	70

Bettington M. с соавторами [Bettington M., 2016] предлагают отдельно выделить ATV с зубчатыми чертами, морфологическими критериями которой авторы устанавливают наличие ворсинчатого компонента на площади не менее 25% площади образования, наличие эктопических крипт на площади не менее 50% площади образования и наличие эозинофильных изменений на площади не менее 10%. Однако на наш взгляд дробление и без того малочисленной группы TSA в сочетании со сложной для применения в рутинной практике системы диагностики только ухудшит воспроизводимость диагноза TSA, что, в свою очередь, приведет к созданию дополнительной гетерогенности. Возможно, при накоплении достаточного объема данных о молекулярно-генетических особенностях TSA в сочетании с клиническими наблюдениями, оправданным будет определение молекулярно-генетического профиля всех образований с эктопическими криптами

и/или эозинофильными изменениями эпителия.

В TSA была выявлена статистически значимая взаимосвязь между почкованием, ветвлением и наличием сформированных эктопических крипт ($r=0,242$, $p=0,043$), что свидетельствует о патогенетической общности этих признаков и позволяет рассматривать TSA как вариант развития ATV. В то же время нельзя исключить, что TSA изначально имеют отличный от CLA генотип. В таком случае почкование и ветвление крипт, а также эозинофильные изменения эпителия, «дрожание» эпителия и формирование сомнительных эктопических крипт могут являться ранними маркерами TSA.

При сравнении иммунофенотипа AT, ATV и TSA получены достаточно гетерогенные результаты (табл. 6, рис. 5-10).

Таблица 6. Характер экспрессии иммуногистохимических маркеров в AT, ATV и TSA.

Маркер	Характеристика	AT	ATV	TSA
p53	Значимая реакция	33,3%	60,7%	73,3%
	Средний процент окрашенных ядер	10,5%	26,5%	25,4%
	Локализация:			0%
	– нижняя ½ крипт	0%	0%	63,6%
– верхняя ½ крипт	80,0%	64,7%	36,4%	
– все протяжение крипт	20,0%	35,3%		
Vcl-2	Отсутствие экспрессии	3,3%	0%	13,3%
	Интенсивность окрашивания:			46,7%
	– слабая	86,3%	67,9%	40,0%
	– умеренная	10,0%	32,1%	
Бета-катенин	Локализация реакции:			0%
	– базальные отделы крипт	16,6%	0,0%	0%
	– нижняя ½ крипт	36,7%	53,6%	86,7%
	– все протяжение крипт	43,4%	46,4%	
Бета-катенин	Ядерная экспрессия	53,3%	64,3%	20,0%
	Локализация реакции:			0%
	– нижняя ½ крипт	6,3%	5,5%	0%
	– верхняя ½ крипт	75,0%	55,6%	66,7%
– все протяжение крипт	18,7%	38,9%	33,3%	
Бета-катенин	Интенсивность окрашивания:			66,7%
	– умеренная	12,5%	16,7%	33,3%
– выраженная	87,5%	8,3%		
Средний процент окрашенных ядер	4,4%	4,9%	4,3%	
CDX2	Нормальный уровень экспрессии	100%	100%	100%
CK20	Локализация реакции:			0%
	– поверхностная	6,7%	0%	0%
	– верхняя 1/3 крипт	16,7%	0%	20,0%
	– верхние 2/3 крипт	40,0%	21,4%	80,0%
– все протяжение крипт	36,6%	78,6%		
CK20	Интенсивность окрашивания:			0%
	– 1 балл	10,0%	3,6%	20,0%
	– 2 балла	30,0%	25,0%	46,7%
	– 3 балла	53,3%	39,3%	33,3%
	– 4 балла	6,7%	32,1%	0%
– 5 баллов	0%	0%		
Ki67	Средний процент окрашенных ядер:			
	– верхняя ½ крипт	59,3%	64,2%	63,0%
	– нижняя ½ крипт	20,5%	27,2%	5,2%
	– эктопические крипты	–	–	29,9%

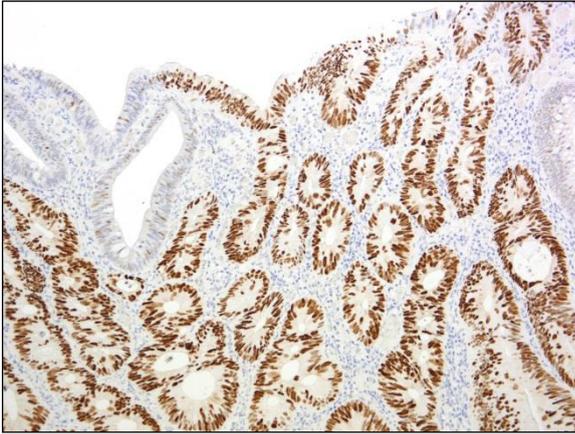


Рис. 5. Значимая экспрессия p53 в АТ (об.х10)

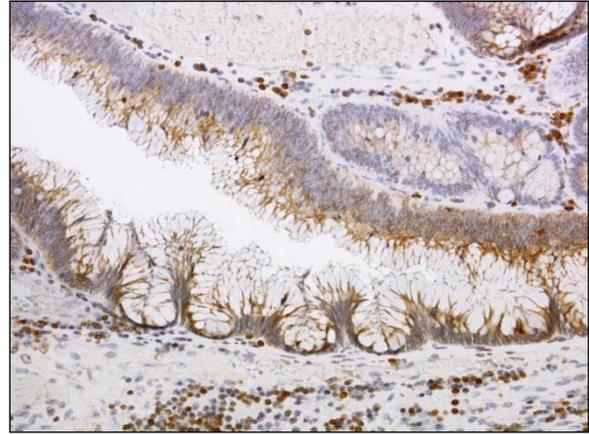


Рис. 6. Реакция с bcl-2 умеренной интенсивности в зоне эктопических крипт TSA (об.х20)

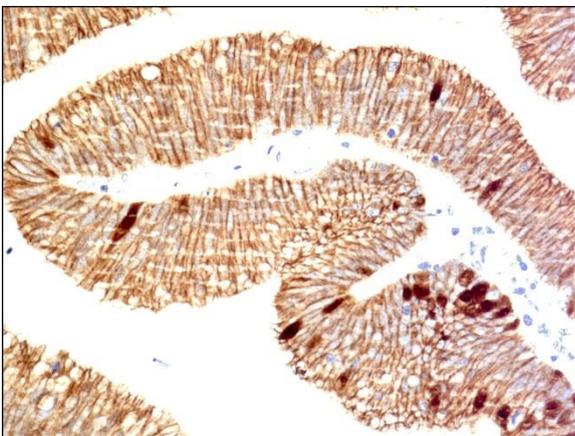


Рис. 7. Выраженная ядерная экспрессия бета-катенина в 5% клеток в ATV (об.х40)



Рис. 8. Нормальный уровень экспрессии CDX2 в ATV (об.х5)

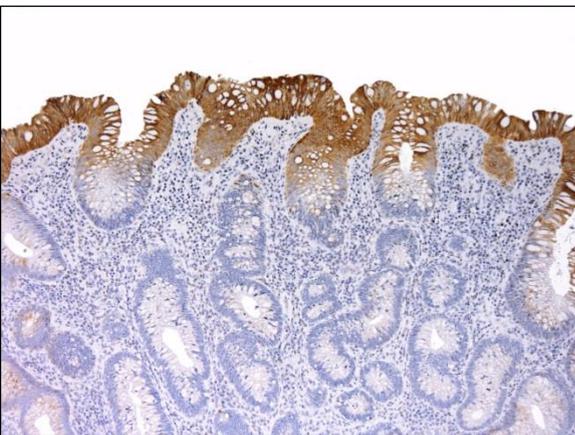


Рис. 9. Экспрессия SK20 в АТ: поверхностное окрашивание с интенсивностью 3 балла (об.х10)

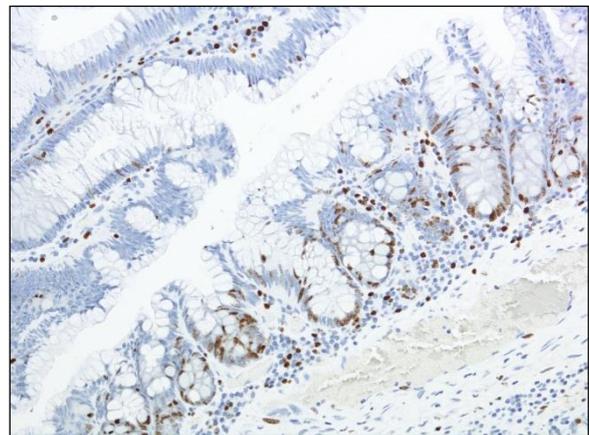


Рис. 10. Экспрессия Ki67 в эктопических криптах TSA (об.х20)

Между АТ и ATV отмечены различия по 6 признакам – средний процент p53- и бета-катенин-позитивных ядер, интенсивность окрашивания bcl-2, расширение зоны экспрессии и интенсивность окрашивания SK20, индекс Ki67 в нижней ½ крипт, причем во всех случаях выраженность признака выше в ATV. При сравнении TSA с АТ различия отмечены по 8 критериям: частота значимой реакции и средний процент p53-позитивных ядер, расширение зоны экспрессии и

интенсивность окрашивания bcl-2 и CK20, частота ядерной экспрессии бета-катенина, индекс Ki67 в нижней 1/2 крипт; при сравнении TSA с ATV – по 5 критериям: расширение зоны экспрессии и интенсивность окрашивания bcl-2, частота ядерной экспрессии и средний процент бета-катенин-позитивных ядер, индекс Ki67 в нижней 1/2 крипт. При этом более выраженное расширение зоны экспрессии bcl-2 и выраженное снижение пролиферативной активности в нижней половине крипт в TSA мы связываем со смещением популяции клеток базальных отделов крипт в эктопические крипты. Таким образом, TSA демонстрирует сходство с ATV по большинству исследованных критериев.

Для решения вопроса о целесообразности объединения HP, SSA/P и TSA в группу «зубчатые образования» было проведено сравнение по ряду клинических и морфологических характеристик. Несхожесть общего плана строения TSA с HP и SSA/P ограничило возможности морфологического сравнения: атрофия и инвертированный рост не встречались в TSA, ворсинчатый компонент не был выявлен в HP и SSA/P, очаговый характер формирования эктопических крипт в 91,4% TSA не позволил оценить глубину распространения зубчатости, диффузный характер распространения зубчатости в HP и SSA/P не позволил выявить «дрожание» эпителия. Сравнение HP, SSA/P и TSA было проведено по частоте выявления почкования и ветвления крипт; SSA/P и TSA – также по частоте встречаемости эозинофильных изменений эпителия и дисплазии (табл. 2, табл. 5). TSA достоверно отличались от HP и SSA/P по всем исследованным признакам. При сравнении TSA с HP и SSA/P по клиническим данным отмечено, доля образований 0-I и 0-II классов среди TSA достоверно отличается от HP и SSA/P и не отличается от AT и ATV (табл. 2, табл. 5). Также было отмечено, что проксимально расположенные HP и SSA/P достоверно крупнее, чем расположенные дистально (HP – $6,07 \pm 0,42$ мм и $4,65 \pm 0,31$ мм, SSA/P – $8,24 \pm 0,62$ мм и $6,03 \pm 0,84$ мм соответственно). Для TSA, AT и ATV подобной закономерности выявлено не было.

При анализе иммуногистохимического профиля (табл. 4, табл. 6) были выявлены достоверные отличия AT, ATV и TSA от HP и SSA/P по всем исследованным критериям. В связи с этим объединение TSA с HP и SSA/P в общую группу «зубчатые образования» представляется не логичным, а вопрос о целесообразности выделения TSA в отдельный тип предопухолевых образований – дискуссионным.

ВЫВОДЫ

1. HP и SSA/P достоверно отличаются по большинству изученных морфологических признаков – расширение зоны зубчатости отмечено в 32,1% HP и 68,5% SSA/P, признаки атрофии – в 30,5% HP и 45,9% SSA/P, ветвление крипт – в 8,6% HP и 25,2% SSA/P, наличие митозов – в 59,0% HP и 44,6% SSA/P. После объединения HP и SSA/P в CSL отмечена взаимосвязь макроскопического типа,

расширения базальных отделов крипт, атрофии и дисплазии с проксимальной локализацией образования ($r=0,160-0,334$), макроскопическим типом, степенью расширения базальных отделов крипт, наличием митозов и эозинофильных изменений эпителия с атрофией ($r=0,124-0,287$), расширением базальных отделов и ветвлением крипт с расширением зоны зубчатости ($r=0,312-0,479$), а также дисплазии с наличием эозинофильных изменений эпителия ($r=0,318$). При этом установить единую морфологическую границу в группе CSL невозможно в связи со сложностью взаимосвязей между морфологическими характеристиками. Взаимосвязь между наличием дисплазии и расширением базальных отделов крипт отсутствует ($p>0,05$). Между HP и SSA/P при анализе результатов иммуногистохимических реакций с бета-катенином, p53, bcl-2, CDX2 и CK20 ни по одному из исследованных критериев не было выявлено достоверных различий ($p>0,05$).

2. Сравнение TSA с AT и ATV по формальным морфологическим признакам выявило отсутствие специфических для TSA морфологических критериев. В 1% AT и 6,1% ATV выявлены структуры, схожие с эктопическими криптами; в 1,3% AT и 10,6% ATV зафиксированы эозинофильные изменения эпителия. В ряду AT – ATV – TSA отмечено возрастание частоты выявления почкования крипт (37,5% AT, 45,4% ATV и 67,1% TSA), ветвления крипт (20,0% AT, 22,7% ATV и 51,4% TSA), «дрожания» эпителия (9,7% AT, 18,1% ATV и 68,6% TSA), эозинофильных изменений эпителия (1,3% AT, 10,6% ATV и 70,0% TSA), а также размеров образований (средний размер AT – 6,2 мм, ATV – 11,1 мм, TSA – 14,4 мм). Выявленная взаимосвязь между почкованием, ветвлением и наличием сформированных эктопических крипт ($r=0,242$, $p=0,043$) свидетельствует о патогенетической общности этих признаков. При анализе результатов иммуногистохимических реакций TSA не отличались от AT по 9 из 17 исследованных критериев, от ATV – по 12 из 17 исследованных критериев. При этом более выраженное расширение зоны экспрессии bcl-2 (расширение на все протяжении крипт отмечено в 43,4% AT, 46,4% ATV и 86,7% TSA) и CK20 (экспрессия на всем протяжении крипт отмечена в 36,6% AT, 78,6% ATV и 80,0% TSA), а также выраженное снижение пролиферативной активности в нижней половине крипт (индекс Ki67 составил 20,5% в AT, 27,2% в ATV, 5,2% в TSA и 29,9% в эктопических криптах TSA) мы связывает со смещением популяции клеток базальных отделов крипт в эктопические крипты. Таким образом, TSA демонстрирует сходство с ATV по подавляющему большинству исследованных критериев.

3. По совокупности клинико-морфологических данных и результатов иммунофенотипирования возможно выделение двух несхожих между собой групп – CSL и CLA, включающую TSA; объединение отличающихся по подавляющему большинству исследованных характеристик TSA, HP и SSA/P в единую группу представляется нецелесообразным.

4. Используемый в работе набор иммуногистохимических маркеров (бета-катенин, p53, CDX2, bcl-2, CK20, Ki67) не может быть использован для дифференциального диагноза HP и SSA/P, TSA и ATV. При необходимости проведения дифференциального диагноза AT, ATV, TSA и HP или SSA/P возможно применения bcl-2 и Ki67. Экспрессия bcl-2 в HP и SSA/P отсутствует в 60,7% и 80,0% соответственно, имеет низкую интенсивность и ограничена базальными отделами крипт в 35,7% и 20,0% случаев соответственно; в AT, ATV и TSA отмечено расширение зоны экспрессии за пределы базальных отделов крипт в 73,3%, 100% и 86,7% соответственно, умеренная интенсивность окрашивания в 10,0%, 32,1% и 40,0% случаев соответственно. Экспрессия Ki67 в HP и SSA/P отмечена, преимущественно, в нижней половине крипт (индекс Ki67 составил 63,0% в HP, 35,8% и 66,2% в расширенных и нерасширенных крипах SSA/P соответственно), в AT, ATV и TSA – в верхней половине или на всем протяжении крипт (индекс Ki67 в верхней половине крипт составил 59,3% в AT, 64,2% в ATV и 63,0% в TSA).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В целях улучшения соответствия между биологическими группами и морфологической классификацией предопухолевых образований толстой кишки рекомендовано объединить HP и SSA/P в единую группу «зубчатые образования цитоплазматического типа». Клинически значимыми характеристиками являются размер и локализация образования, наличие или отсутствие дисплазии, что необходимо отражать в заключении. Типичное морфологическое заключение будет иметь вид: «Крупное/мелкое зубчатое образование цитоплазматического типа, проксимально/дистально расположенное, с/без дисплазии эпителия».

2. В связи с отсутствием достоверных морфологических критериев TSA и выраженным сходством TSA и ATV по совокупности клинико-морфологических данных и результатов иммунофенотипирования следует расценивать TSA как один из вариантов развития ATV, включить TSA в группу классических аденом и использовать термин «ATV с наличием эктопических крипт». В целях выработки клинической тактики ведения пациентов в заключении указывать наличие эктопических крипт вне зависимости от занимаемой ими площади.

3. В связи с объединением HP и SSA/P в единую рубрику зубчатых образований цитоплазматического типа и объединением TSA с классическими аденомами с целью упрощения классификации предопухолевых образований толстой кишки предлагаем упразднить группу «зубчатые образования».

4. При необходимости дифференциальной диагностики между зубчатыми образованиями цитоплазматического типа и классическими аденомами использовать маркеры Ki67 и bcl-2 с связи с наиболее выраженными различиями в локализации и характере экспрессии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Харлова, О. А. Альтернативный путь развития колоректального рака. Эндоскопические и морфологические особенности зубчатых поражений / Агейкина Н. В., Дуванский В. А., Князев М. В., Мальков П. Г., Данилова Н. В., Харлова О. А. // Клиническая эндоскопия. – 2014. – Т. 43. – № 1. – С. 38-49.
2. Харлова, О. А. Альтернативный путь развития колоректального рака. Гистогенетические и молекулярные особенности зубчатых поражений (обзор литературы) / Агейкина Н. В., Дуванский В. А., Князев М. В., Мальков П. Г., Данилова Н. В., Харлова О. А. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т.107. – № 7. – С. 4-12.
3. Харлова, О. А. Зубчатые образования толстой кишки. Ретроспективное исследование / Харлова О. А., Данилова Н. В. / Научно-практическая конференция молодых ученых судебных медиков и патологоанатомов Центрального федерального округа Российской Федерации «Современные методы лабораторной и инструментальной диагностики травм и заболеваний. Профилактика профессиональной заболеваемости специалистов» (24 октября 2014, Москва, Россия). – Москва, 2014. – С. 96.
4. Харлова, О. А. Зубчатые образования (Serrated lesions) толстой кишки / Харлова О. А., Данилова Н. В., Мальков П. Г., Агейкина Н. В., Князев М. В. // **Архив патологии.** – 2015. – Т. 77. – № 1. – С. 60-68.
5. Харлова, О. А. Зубчатые образования (serrated lesions) толстой кишки: анализ распространенности и клинико-морфологические формы / Харлова О. А., Данилова Н. В., Мальков П. Г., Агейкина Н. В., Князев М. В. // **Архив патологии.** – 2015. – Т. 77. – № 4. – С. 24-32.
6. Харлова, О. А. Аденоплоскоклеточный рак толстой кишки: клинический случай / Нефедова Н. А., Харлова О. А., Мальков П. Г., Харлов Н. С., Данилова Н. В. // **Современная онкология.** – 2015. – № 3. – С. 88-90.
7. Kharlova, O. A. Colon adenocarcinoma developed from traditional serrated adenoma. Report of 6 cases / Kharlova O. A., Danilova N. V., Nefedova N. A., Malkov P. G., Kharlov N. S. / 27th European Congress of Pathology (Belgrad, 2015) // *VirchowsArchiv.* – 2015. – V. 467. – Suppl 1. – P. 189.
8. Харлова, О. А. Частота встречаемости предопухолевых поражений толстой кишки в биопсийном материале / Харлова О. А. / X Международная (XIX Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (19 марта 2015, Москва, Россия). – Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2015. – № 2. – С. 367-368.
9. Харлова, О. А. Зубчатые образования толстой кишки: Изменение частоты встречаемости в биопсийном материале в ходе развития концепции / Харлова О. А. / Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием «Медицинская весна – 2015» (19 мая 2015, Москва, Россия). – Москва, 2015. – С. 464-465.

10. Харлова, О. А. Выбор критериев морфологической диагностики традиционных зубчатых аденом / Харлова О. А., Нефедова Н. А. / VI Международный Молодежный Медицинский Конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» (2-4 декабря 2015, Санкт-Петербург, Россия). – СПб, 2015. – С. 270-270.
11. Харлова, О. А. Парадоксальная экспрессия клаудинов в образованиях толстой кишки / Нефедова Н. А., Харлова О. А. / VI Международный Молодежный Медицинский Конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения – 2015» (2-4 декабря 2015, Санкт-Петербург, Россия). – СПб, 2015. – С. 260-260.
12. Харлова, О. А. Иммуногистохимическая оценка маркера Musashi-1 в аденокарциноме и доброкачественных новообразованиях толстой кишки / Нефедова Н. А., Харлова О. А., Мальков П. Г., Данилова Н. В. // **Клиническая и экспериментальная морфология**. – 2016. – № 1. – С. 4-10.
13. Харлова, О. А. Экспрессия клаудина-1, 3, -4 в раке и полипах толстой кишки / Нефедова Н. А., Харлова О. А., Мальков П. Г. // **Архив патологии**. – 2016. – №3. – С. 11-19.
14. Харлова, О. А. Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте / Нефедова Н. А., Харлова О. А., Данилова Н. В., Мальков П. Г., Гайфуллин Н. М. // **Архив патологии**. – 2016. – №2. – С. 55-62.
15. Харлова, О. А. Экспрессия Ki67 и CD44 в раке и полипах толстой кишки / Нефедова Н. А., Харлова О. А. / Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных Ломоносов-2016. Секция «Клиническая медицина» / МГУ имени М. В. Ломоносова. – Москва, 2016. – С. 260-260.
16. Харлова, О. А. Экспрессия маркеров классического пути канцерогенеза Beta-catenin и Cdx-2 в предопухолевых поражениях толстой кишки / Харлова О. А., Нефедова Н. А. / Сборник тезисов II Петербургского онкологического форума "Белые ночи-2016". – СПб, 2016. – С. 324-325.
17. Харлова, О. А. Экспрессия маркеров стволовых клеток CD44 и MSI-1 в новообразованиях толстой кишки / Нефедова Н. А., Харлова О. А. // Сборник тезисов II Петербургского онкологического форума "Белые ночи-2016". – СПб, 2016. – С. 321-322.
18. Kharlova, O. A. Expression of beta-catenin in premalignant lesions of the colon and rectum / Kharlova O. A., Nefedova N. A., Danilova N. V., Malkov P. G. // 28th European Congress of Pathology (Cologne, 2016). – Virchows Archiv. –Vol. 469. – Suppl 1. – 2016. – P. 153-154.
19. Харлова, О. А. Анализ морфологических и клинических характеристик неклассифицируемых зубчатых полипов / Харлова О. А., Нефедова Н. А., Данилова Н. В., Мальков П. Г. / Материалы XX Российского онкологического конгресса (15-17 ноября 2016, Москва, Россия) // Злокачественные опухоли. – 2016.– Т. 21. – 2016. – С. 152-153.

20. Харлова, О. А. Сравнительный анализ клинических и морфологических характеристик гиперпластических полипов и зубчатых аденом/полипов на широком основании / Харлова О. А., Олейникова Н. А., Мальков П. Г., Данилова Н. В., Попов П. В. // **Уральский медицинский журнал**. – 2017. – № 4. – С. 56-62.
21. Харлова, О. А. Особенности экспрессии клаудинов в новообразованиях толстой кишки / Олейникова Н. А., Харлова О. А., Мальков П. Г., Данилова Н. В. // **Архив патологии**. – 2017. – № 1. – С. 28-35.
22. Харлова, О. А. Диагностические критерии зубчатых образований толстой кишки / Агейкина Н. В., Харлова О. А., Олейникова Н. А., Мальков П. Г., Князев М. В., Дуванский М. А. // **Доктор.ру**. – 2017. – № 3. – С. 54-60.
23. Харлова, О. А. Сравнительный анализ морфологических характеристик зубчатых образований толстой кишки с цитоплазматическим типом зубчатости / V съезд Российского общества патологоанатомов (1-4 июня 2017, Челябинск, Россия). – Челябинск, 2017. – С. 345-47.
24. Kharlova, O. A. Immunohistochemical evaluation of p53 in premalignant lesions of the colon and rectum / Kharlova O. A., Oleynikova N. A., Danilova N. V., Malkov P. G., Popov P. V. // 29th European Congress of Pathology (Amsterdam, 2017). – Virchows Archiv. –Vol. 471. – Suppl 1. – 2017. – P. 199.
25. Kharlova, O. A. Paradoxical expression of claudins in adenocarcinoma and premalignant lesions of the colon and rectum / Kharlova O. A., Oleynikova N. A., Danilova N. V., Malkov P. G., Popov P. V. // 29th European Congress of Pathology (Amsterdam, 2017). – Virchows Archiv. –Vol. 471. – Suppl 1. – 2017. – P. 197.
26. Харлова, О. А. Иммуногистохимическая характеристика экспрессии Ki67 в предопухолевых образованиях толстой кишки / Харлова О. А., Олейникова Н. А., Мальков П. Г., Данилова Н. В. // **Уральский медицинский журнал**. – 2018. – 2 (157). – С. 62-69.
27. Харлова, О. А. Целесообразность выделения традиционных зубчатых аденом среди эпителиальных новообразований толстой кишки / Олейникова Н. А., Харлова О. А. // **Материалы III всероссийской конференции «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека»** (Челябинск, 23-24 марта 2018). – Челябинск, 2018. – С. 60-63.
28. Харлова, О. А. Оценка возможностей использования СК20 для дифференциальной диагностики и определения потенциала малигнизации предопухолевых новообразований толстой кишки / Олейникова Н. А., Харлова О. А. // **Материалы III всероссийской конференции «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека»** (Челябинск, 23-24 марта 2018). – Челябинск, 2018. – С. 87-90.
29. Харлова, О. А. Новые подходы к классификации зубчатых образований толстой кишки / Харлова О. А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В.// **Современные проблемы науки и образования**. – 2018. – № 2. – электронное издание, доступ по ссылке: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27471>.